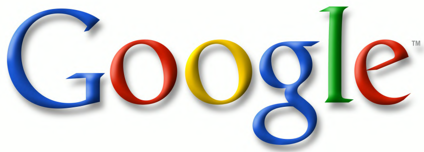
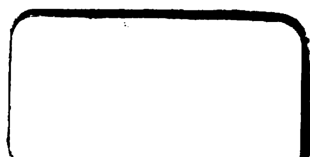






ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

PUBBLICATO DA

G. BIZZOZERO (Torino) — C. BOZZOLO (Torino) — P. FOÀ (Torino)
C. GIACOMINI (Torino) — C. GOLGI (Pavia) — L. GRIFFINI (Genova)
N. MANFREDI (Pisa) — E. MARCHIAFAVA (Roma) — A. MOSSO (Torino)
L. PAGLIANI (Roma) — E. PERRONCITO (Torino) — E. SERTOLI (Milano)
C. TARUFFI (Bologna) — G. TIZZONI (Bologna)

E DIRETTO DA

G. BIZZOZERO

VOLUME DECIMOSESTO

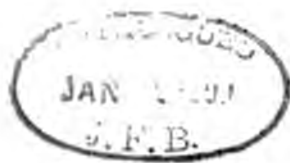
CON 12 TAVOLE E 26 INCISIONI



TORINO E PALERMO
CARLO CLAUSEN

FIRENZE - ERMANNO LOESCHER - ROMA

1892



Torino — VINCENZO BONA, Tip. di S. M.

INDICE

delle materie contenute nel presente volume.

MEMORIE ORIGINALI

G. BORDONI-UFFREDUZZI

SULLA DISINFEZIONE DEGLI AMBIENTI

Il problema generale della disinfezione degli ambienti, il quale mira a distruggere i germi infettanti versati nel mondo esterno per opera delle persone colpite da malattie infettive, nello scopo di limitarne la diffusione, può esser diviso in due parti fra loro distinte, specialmente per ciò che riguarda i mezzi che si adoperano per ottenere la distruzione del materiale infettante, e cioè:

a) Disinfezione delle biancherie, oggetti letterecci ed altri, che, essendo stati a contatto più o meno diretto col malato, possono essere inquinati dall'agente morboso;

b) Disinfezione dell'ambiente, propriamente detta, vale a dire delle pareti, del pavimento e degli oggetti di mobilio, appartenenti alla camera dove ha dimorato l'infermo.

L'impianto di una cosidetta « Stazione di disinfezione » per la sterilizzazione degli oggetti letterecci e di vestiario, usati da persona infetta, fa già parte dei servizi pubblici d'igiene di molte città d'Europa, specialmente in Germania, mentre la disinfezione degli ambienti è finora applicata soltanto in pochi luoghi, e non sempre in modo rispondente allo scopo, per quanto essa costituisca il complemento necessario e indispensabile della prima.

A che infatti disinfettare gli oggetti anzidetti, se riportati

in casa, possono di nuovo infettarsi cogli stessi germi esistenti nell'ambiente, e se questi possono sempre costituire un pericolo imminente per le persone che vi stanno?

Le ragioni del fatto qui sopra enunciato devono in parte ricercarsi in ciò che la disinfezione degli ambienti, fra le pratiche di profilassi delle malattie infettive, è quella che tocca più davvicino la vita domestica, e incontra quindi non di rado opposizione da parte del pubblico, e in parte anche nel fatto, che non si è finora trovato per essa un mezzo di disinfezione innocuo e sicuro, come è il calore umido per quella degli oggetti.

L'una e l'altra di queste disinfezioni, là dove sono in attività, si praticano allorquando la malattia ha avuto un esito (morte o guarigione), oppure quando l'infermo fu trasportato altrove.

Ma nel problema generale delle disinfezioni esterne dovrebbe, a rigore, entrare anche un'altra parte, riguardante la distruzione continuata del materiale infettante, emesso dagli infermi, *durante la malattia;* parte questa che è forse la più importante per l'igiene, perchè nel decorso dell'infezione i germi infettanti vengono continuamente, ed in gran copia, versati nel mondo esterno, ed anche perchè in certe malattie l'agente patogeno è molto più virulento in principio, che non in fine (polmonite).

Pur troppo, per fare entrare anche questa parte nei servizi pubblici di igiene, ci si parano dinanzi serie difficoltà, specialmente di ordine pratico; ma l'igienista deve insistere, per ottenere che, in tal modo, il servizio delle disinfezioni pubbliche, già iniziato con vantaggio in molti luoghi, possa conseguire un effetto, realmente e visibilmente efficace.

Lasciando per ora da parte una tale questione, la quale del resto merita di esser trattata più dal punto di vista della pratica esecuzione, che dal lato scientifico, giacchè in ciò nulla presenta di diverso dal resto del problema, io qui intendo occuparmi specialmente di quei mezzi che sono da porsi in opera per far sì che luoghi, i quali furono abitati da per-

sone infette, possano poscia venire abitati, senza pericolo, da persone sane (1).

Il pericolo per queste dipende da ciò, che i germi infettanti i quali, in una maniera qualsiasi, hanno abbandonato il corpo dell'infermo e si sono depositati colla polvere sulle pareti, sul pavimento o sui mobili della stanza, possono poscia, ad ogni momento, esser sollevati nell'aria ed arrivare così, per diverse vie, ad infettare un altro organismo.

E l'esistenza di un tale pericolo non è soltanto fondata su deduzioni razionali dei dati scientifici, ma è basata su fatti indiscutibili, parte d'ordine clinico e parte d'origine sperimentale.

Già la semplice osservazione avea dimostrato, che è frequente il caso che persone perfettamente sane e senza disposizione ereditaria divengano tisiche, dopo essere andate ad occupare abitazioni di individui tubercolotici, oppure ammalino di difterite in seguito alla permanenza in luoghi precedentemente abitati da difterici.

Orbene, colla ricerca diretta dei germi patogeni nella polvere delle stanze, si è avuta la conferma sperimentale di quell'osservazione, giacchè si è dimostrato, per opera specialmente di Cornet (2) e di Krüger (3), che i bacilli della tubercolosi si trovano appunto là dove abitarono persone affette da tisi, mentre invece non si riesce a dimostrarne la presenza in altri luoghi. Lo stesso dicasi della presenza, nel-

---

(1) Le esperienze che corredano il presente lavoro vennero eseguite in parte nel Laboratorio Batteriologico dell'Ufficio Municipale d'Igiene e in parte nel Laboratorio di Patologia generale dell'Università. Nel primo ho compiuto, col concorso del personale che vi è addetto, tutto ciò che si riferisce all'applicazione pratica dei mezzi di disinfezione negli ambienti; nel secondo ho eseguito la parte relativa agli esperimenti negli animali, all'esame delle colture, ecc., che non poteva, per l'indole pratica del laboratorio, essere compiuta convenientemente nell'Ufficio d'Igiene.

(2) Cornet, « Die Verbreitung der Tuberkelbacillen ausserhalb des Körpers » (*Zeitschr. f. Hygiene*, vol. V, 1889).

(3) Krüger, « Einige Untersuchungen des Staubniederschlages der Luft in Bezug auf seinem Gehalt an Tuberkelbacillen ». Inaug. Dissert. Bonn, 1889.

l'aria e sulle pareti di locali infetti, dei cosidetti microrganismi piogeni, che sono causa di molteplici forme d'infezione (**Emmerich** (1) e **Von Emmerich Ullmann** (2)); senza parlare poi dei germi specifici del tetano e dell'edema maligno, i quali sono largamente diffusi in natura.

Per altre malattie infettive non si è potuto, è vero, sia per le difficoltà inerenti a tali ricerche, sia perchè non sono noti gli agenti specifici, dimostrare il fatto della diffusione di essi negli ambienti che ricettarono i rispettivi infermi; ma è più che sufficiente il sapere che l'esperienza clinica dimostra la possibilità della trasmissione del contagio per mezzo delle abitazioni, e che l'osservazione batteriologica vi trova sparsi quei germi che sono accessibili ai nostri mezzi d'indagine, per giustificare ampiamente l'importanza che si annette, dal punto di vista dell'igiene, alla disinfezione degli ambienti.

Prima di parlare dei mezzi da usarsi per un tale genere di disinfezione, resta ancora a decidere se il problema è unico per tutte le malattie, oppure se esso debba trattarsi per ciascuna separatamente. Scientificamente parlando, i mezzi da porsi in opera per disinfettare gli ambienti dovrebbero esser diversi per ogni infezione, dal momento che son diverse le proprietà biologiche e specialmente il grado di resistenza dei rispettivi agenti specifici.

Ma di fronte a ciò sta il fatto, che le nostre conoscenze a riguardo della biologia di molti agenti infettivi sono tutt'altro che complete, e a riguardo di alcuni, anzi, assolutamente nulle, e quindi non tali da permetterci un'applicazione razionale e metodica di un processo di disinfezione speciale per ciascuna malattia. D'altra parte è anche da considerarsi la difficoltà di applicare in pratica processi diversi nei singoli casi: non

---

(1) **Emmerich**, « Ueber den Nachweis von Erysipel-kokken in der Luft in einem Secirsaale » (*Tageblatt der* 59 *Versammlung der deuts. Naturf. und Aerzte zu Berlin*, 1886, p. 433).

(2) **Von Emmerich Ullmann**, « Die Fundorte der Staphylokokken » (*Zeitschr. f. Hygiene*, vol. IV, 1888).

ci resta quindi, per ora, che scegliere fra tutti quel mezzo soltanto, il quale ci offre il massimo di garanzia per la distruzione dei germi patogeni più resistenti che noi conosciamo, come produttori delle malattie infettive predominanti. Si potrà, tutt'al più, modificare talvolta alcune modalità del processo a seconda dei casi; così, ad es., sapendo che nel tifo addominale e nel colèra i germi non abbandonano l'organismo che per mezzo delle deiezioni, insisteremo specialmente sulla disinfezione del pavimento e delle pareti, lasciando da parte quella del soffitto.

I mezzi proposti per la disinfezione degli ambienti si possono dividere in mezzi *fisici* e mezzi *chimici*.

Tra i primi accenniamo appena al semplice *raschiamento*, perchè porta seco inconvenienti troppo gravi, e cioè, di essere anzitutto applicabile alle pareti soltanto e non al pavimento, di esporre le persone che lo praticano al pericolo dell'inalazione del pulviscolo infetto e finalmente di risolvere il problema soltanto in parte; giacchè, anche ammesso che col materiale raschiato vengano portati via tutti i germi, bisogna poi pensare alla loro distruzione, altrimenti servirebbero a propagare il contagio anche al difuori dell'ambiente.

Non parliamo neppure della disinfezione col *calore*, sia sotto forma di fiamma, sia sotto forma di corrente di vapore acqueo, spinta sotto pressione a contatto delle pareti, giacchè la prima brucia ed altera non soltanto i microrganismi, ma anche le pareti, e il vapor d'acqua, oltre all'essere insufficiente, come ha dimostrato Esmarch, ha anche l'inconveniente di distaccare meccanicamente i germi dalle pareti, prima di ucciderli. Come ciò non bastasse, l'applicazione di tal mezzo riesce praticamente così difficile, che è quasi impossibile potere con esso ottenere una disinfezione esatta di tutto l'ambiente; senza contare che ciascuna disinfezione costerebbe un prezzo molto elevato.

Resta a parlare di un altro mezzo fisico di disinfezione, il

quale ha incontrato favore specialmente in Germania, dove fu sperimentalmente provato da un allievo di Koch (1), e che consiste nella pulitura meccanica delle pareti degli ambienti per mezzo della *mollica di pane*. Questo mezzo, secondo le esperienze di Esmarch, avrebbe il vantaggio di privare sicuramente la superficie delle pareti di tutti i batteri che vi sono aderenti, e di essere assolutamente innocuo per chi lo mette in opera.

Anche ammettendo, però, l'esattezza scientifica di tali risultati (2), contro l'applicazione pratica di un tal mezzo si possono sollevare tali e tante obbiezioni, che mal si comprende come siasi potuto pensare in Germania ad estenderne l'applicazione.

Difatti notiamo anzitutto che, se la pulitura meccanica col pane si può eseguire con risultato sulle pareti, non si può invece applicare sul pavimento, il quale deve essere per ciò disinfettato diversamente. Infatti a Berlino, dove si usa tuttora per la disinfezione delle pareti il metodo di Esmarch, si prescrive in pari tempo di bagnare il pavimento con una soluzione di acido fenico al 5 °/₀ e di bruciare il pane che ha servito per pulire le pareti. Applicando un tal metodo, bisogna adunque pensare a disinfettare in altro modo il pavimento e a distruggere i germi che col pane sono stati portati via dalle pareti: operazioni queste, che costituiscono una complicazione non piccola dell'intiero processo di disinfezione. Ma, oltre a ciò, si noti il tempo lunghissimo necessario a praticare una tale operazione negli ambienti un po' grandi, il suo costo elevato, e per la materia che si adopera e per il tempo oc-

---

(1) Esmarch, « Der Keimgehalt der Wände und ihre Desinfection » (*Zeitschr. f. Hygiene*, vol 2°, 1887, p. 491).

(2) Tale esattezza è stata contestata da Gerlóczy (V. rivista del lavoro nello *Jahresbericht* di Baumgarten, 1889, p. 599), il quale ha trovato che, raschiando la superficie delle pareti e facendone culture, invece che stropicciarle semplicemente colla spugna sterilizzata, come ha fatto Esmarch, si trovano ancora sulle pareti, dopo la pulitura col pane, numerosi microrganismi. Lo stesso risultato ha ottenuto G. dopo la lavatura col latte di calce e dopo la disinfezione coll' SO^2.

cupato da chi lavora, e finalmente il non esistere una sicurezza assoluta nella disinfezione, specialmente nel caso in cui sulle pareti sia aderente tenacemente qualche materiale organico disseccato, come sarebbero le feci e gli sputi.

Per tutte queste ragioni, malgrado l'esperienza fattane a Berlino, a me sembra che di un tal processo per la pratica sia appena da parlarne, in confronto di un altro, il quale, come dirò, senza avere gli inconvenienti sopra accennati, corrisponde bene a tutte le esigenze di una facile e sicura disinfezione.

Se i mezzi fisici, adunque, non sono adatti, bisogna ricorrere ai mezzi *chimici*. E difatti, il mezzo più antico di disinfezione degli ambienti, che oggidì è andato in disuso, per quanto trovi tuttora qualche sostenitore, è quello della disinfezione mediante sostanze gazose, destinate a distruggere i germi esistenti sulla superficie libera degli ambienti, non solo, ma anche quelli dell'aria.

Il principio teorico da cui partivano gli igienisti di una volta nel proporre l'uso di queste sostanze era pur razionale; giacchè i disinfettanti gazosi pareano i più adatti per andare di per sè, diffondendosi nell'aria, a contatto di tutta quanta la superficie dell'ambiente e degli oggetti quivi esistenti, uccidendo in pari tempo i germi che possono trovarsi sospesi nell'aria. Purtroppo però, allorquando si poterono applicare i metodi scientifici di ricerca batteriologica per controllarne l'efficacia, si vide bentosto che essi non corrispondono allo scopo, giacchè la loro efficacia è legata a condizioni tali, quali è quasi impossibile realizzare nell'interno di una stanza.

I gaz proposti sono stati specialmente l'anidride solforosa, il cloro nascente e i vapori di sublimato.

L'*anidride solforosa* è, fra tutti, quella che ha avuto l'applicazione più estesa, sia per le abitazioni, come per i cosidetti suffumigi delle persone in casi di epidemia. I risultati delle numerose esperienze batteriologiche, fatte per provare l'azione disinfettante di questo gaz, si possono riassumere in breve, dicendo che la gran maggioranza degli osservatori, e i più competenti, hanno tutti confermato le conclusioni a cui arri-

varono Wolffhügel (1) e Koch (2), i quali furono i primi ad istituire su tale gaz ricerche scientificamente rigorose, conclusioni che suonano press'a poco così: l'anidride solforosa, anche in istato di forte concentrazione, non è in grado neppure di uccidere i microrganismi meno resistenti (cocci e bacilli non sporigeni) che si trovano allo stato secco, aderenti ai mobili e alle pareti; se però la superficie degli ambienti e degli oggetti è inumidita, ciò che si può ottenere saturando l'aria di vapore acqueo, l'SO^2 acquista un potere disinfettante maggiore, ma sempre insufficiente verso i germi più resistenti.

Degli osservatori posteriori, che hanno ripetuto tali esperienze, pochi soltanto sono venuti a conclusioni diverse, sostenendo ancora l'uso pratico del gaz SO^2. Fra gli altri recentemente Wavrinsky (3) afferma che le esperienze di Koch e di Wolffhügel, fatte colle spore del bacillo carbonchioso, non valgono ad infirmare l'applicazione pratica di questo gaz, giacchè egli dice che è sufficiente, per la disinfezione delle stanze, che l'SO^2 sia attiva verso i micrococci e verso i bacilli non sporigeni, e che, se anche non può penetrare negli oggetti, può egualmente distruggere i germi aderenti alla superficie.

L'erroneità di tali osservazioni critiche è facile a dimostrarsi, sia perchè fra gli agenti patogeni che noi conosciamo avvene uno, fra i più temibili e i più diffusi, che è quello della tubercolosi, il quale appunto è molto resistente, e contro il quale è inattiva l'SO^2; e sia anche perchè, se l'SO^2 non penetra negli oggetti secchi, non può neanche distruggere i germi che si trovano negli sputi, o nelle feci, disseccati sul pavimento e sulle pareti. Se a ciò si aggiunge che è quasi impossibile realizzare in una stanza le condizioni, che nello

---

(1) Wolffhügel, « Ueber den Werth der schwefligen Säure als Desinfectionsmittel » (*Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt*, vol. I, p. 188).

(2) Koch, « Ueber Desinfection ». Ibid., p. 234.

(3) V. Rivista nell'*Hygienische Rundschau*, 1891, n. 9, p. 354.

esperimento favoriscono l'azione disinfettante del gaz SO^2 (inumidimento ecc.), che non si può esser sicuri della distribuzione uniforme di esso nell'aria, e quindi di un'azione eguale dappertutto, e che infine il gaz sfugge facilmente, se l'ambiente non è ermeticamente chiuso, si comprende di leggeri come l'uso pratico di questo mezzo sia assolutamente da rigettarsi, come insufficiente allo scopo e come incomodo da adoperarsi.

Per mia esperienza posso dire che in parecchi casi, allorquando in Torino si praticava ancora la disinfezione degli ambienti bruciando lo zolfo, dopo aver tenuto l'ambiente nelle migliori condizioni di umidità e di chiusura ermetica per 24 ore, ho esaminato batteriologicamente la superficie delle pareti e la polvere del pavimento, ed ho trovato dappertutto numerose forme di cocci e di bacilli, fra i quali viventi e virulenti ancora quelli del tetano e dell'edema maligno.

Un altro disinfettante gazoso pure usato e raccomandato in addietro è il *cloro* allo stato nascente. Il cloro, fatto sviluppare nell'aria in proporzione sufficiente, spiega un'azione disinfettante notevolmente più energica dell'SO^2, per quanto anch'esso non agisca che sulla superficie degli oggetti e abbia bisogno che questa sia inumidita, per essere veramente efficace. L'uso di questo gaz per la disinfezione delle case offre, però, inconvenienti eguali, se non maggiori, dell'SO^2; inconvenienti dovuti alla difficoltà di una distribuzione uniforme, in causa del suo peso specifico molto elevato, all'azione sua alterante, non solo sugli oggetti metallici, ma anche sulle pitture e sulle tappezzerie, specialmente se previamente inumidite, e finalmente al suo costo piuttosto elevato. Se ciò non bastasse, si può anche aggiungere che l'esperimento diretto, non di laboratorio, ma sibbene fatto da Krupin (1) in una delle baracche dell'ospedale per le malattie infettive in Pietroburgo, ha dimostrato l'assoluta insufficienza di un tal mezzo di disinfezione. L'esempio è così parlante, che merita veramente di essere riferito nei suoi particolari.

(1) *Zeitschr. f. Hygiene*, vol. III, 1887, p. 219.

In una baracca, dove era stato ricoverato un malato di scarlattina complicata da difterite, poco tempo dopo si manifestò quest'ultima malattia in alcuni individui convalescenti di scarlattina. La baracca venne tosto evacuata, e dopo averla fatta disinfettare accuratamente col cloro, si lasciò vuota per 7 mesi. Quando si riaperse e vi si ricettarono i morbillosi, si verificarono in questi di nuovo alcuni casi di difterite. Fu subito fatta evacuare e di nuovo disinfettata col cloro, in un grado di concentrazione molto maggiore della prima volta (150 gr. di cloruro di calcio e 165 gr. SO^4H^2 per ogni m. c.). Dopo 7 mesi si riaperse di nuovo pei vajuolosi, e questa volta la difterite si manifestò, non soltanto nei malati di vajuolo, ma anche nel personale addetto al servizio. Ammalarono di difterite il medico, due suore e un'infermiera, tutto quanto il personale che vi era addetto, mentre nelle altre baracche di morbillosi e di scarlattinosi, in quel tempo, non si manifestò neppure un caso di difterite.

In quell'ambiente adunque, malgrado che la disinfezione col cloro si fosse ripetuta per due volte e nel miglior modo possibile, il virus difterico si era mantenuto per parecchi mesi vivente e capace di riprodurre l'infezione nelle persone che andarono ad abitarlo.

Per le stesse ragioni non si può parlare del bromo e neppure dei vapori di sublimato corrosivo, proposti da König (1) da usarsi insieme colla SO^2 per la disinfezione degli ambienti; giacchè le osservazioni di Heräus (2), di Kreibohm (3) e di Kümmel (4) hanno dimostrato anche quest'ultimo mezzo come assolutamente inattivo.

Dimostrati così insufficienti anche i disinfettanti chimici gazosi, non resta che a ricorrere ai disinfettanti solidi, sotto forma di soluzione acquosa, più o meno concentrata.

---

(1) *Centralblatt f. Chemie*, 1885, n. 12.
(2) *Deutsche Med. Woch.*, 1885, n. 22.
(3) *Zeitschrift für Hygiene*, vol. I, 1886, p. 235.
(4) Ibid., p. 363.

Guttmann e Merke (1) hanno per primi messo in evidenza i vantaggi, che hanno sugli altri mezzi le soluzioni disinfettanti, stabilendo anche esattamente le condizioni a cui deve soddisfare un buon processo di disinfezione degli ambienti, per corrispondere alle esigenze della pratica. Tali condizioni si riassumono in ciò: di essere sicuramente attivo e di esecuzione facile e spiccia, di non esser dannoso per chi lo eseguisce e per chi deve poscia tornare nella abitazione, di non alterare le tappezzerie o i dipinti, e di non necessitare quindi altre operazioni per l'abitabilità delle stanze, e finalmente di essere poco costoso.

Guttmann e Merke, seguendo tali concetti, hanno fatto esperienze coi disinfettanti che si conosceano più attivi e meno costosi, vale a dire coll'acido fenico e col sublimato corrosivo, e sono venuti alla conclusione che, mentre l'acido fenico al 5 °/₀ è ancora insufficiente, il sublimato invece, nella tenue proporzione dell'1 °/₀₀, può ritenersi come il disinfettante che meglio corrisponde a tutti i postulati suesposti di una buona e pratica disinfezione.

Krupin (2) ha confermato i risultati di Guttmann e Merke, anche coll'esperienza diretta, fatta nelle baracche dell'ospedale per le malattie infettive, praticandone la disinfezione ora col sublimato 1 °/₀₀ ed ora colla miscela a parti eguali di sublimato 1 °/₀₀ e di acido fenico 5 °/₀. Krupin ha finito col dar la preferenza a quest'ultimo miscuglio, giacchè il sublimato 1 °/₀₀ lasciava ancora qualche dubbio sulla sua completa efficacia.

Torneremo fra poco su tale importante questione.

Ora, per terminare di esporre ciò che havvi di più importante nel campo sperimentale sull'argomento, dirò che De-Giaxa (3), partendo dai buoni risultati, ottenuti specialmente da Koch e dai suoi scolari sull'azione disinfettante

(1) *Virchow's Archiv*, vol. 107, 1887, p. 459.

(2) Lavoro citato.

(3) De Giaxa, « Sur l'action désinfectante du blanchiment des murs au lait de chaux » (*Annales de Micrographie*, 1890, t. II, n. 7, p. 305).

dell'idrato di calcio, sospeso nell'acqua sotto forma di « latte di calce », ha sottoposto all'esperienza l'efficacia di questo mezzo come disinfettante delle abitazioni; ed è venuto alla conclusione che il latte di calce al 50 $^0/_0$, spalmato sulle pareti, serve ad uccidere i bacilli del carbonchio non sporigeni, quelli del tifo e quelli del colèra, ma è completamente inattivo verso le spore del bacillo carbonchioso, verso il bacillo della tubercolosi contenuto negli sputi disseccati, e verso quello del tetano. Anche lo stafilococco aureo si mostrò abbastanza resistente, giacchè in quelle esperienze non fu distrutto se non dopo aver ripetuto 2 volte l'imbiancatura col latte di calce. Questi risultati, che collimano perfettamente con quelli ottenuti precedentemente da Jäger (1) colla stessa sostanza, non sono tali davvero, da incoraggiarci ad adoperarla come disinfettante delle abitazioni; giacchè neppure per le malattie dovute a germi, verso i quali si mostrò attiva (tifo e colèra), si può, a mio avviso, esser sicuri della sua efficacia, dal momento che nelle sue esperienze De-Giaxa non fece che esaminare la polvere dello strato di calce, che egli avea depositato col pennello sulle pareti, mentre i germi potevano benissimo essere rimasti sulle pareti, sotto lo strato di calce, ancora viventi.

Nè questa obbiezione è soltanto teorica. In alcune esperienze, fatte nel laboratorio di patologia generale dell'Università, per controllare l'efficacia dei mezzi di disinfezione degli ambienti proposti dall'attuale regolamento militare, si ebbe appunto ad osservare che, dopo aver raschiato lo strato di calce deposto sulle pareti coll'imbiancamento, sulla superficie sottostante si trovavano ancora viventi un buon numero di germi.

L'imbiancamento colla calce non può adunque esser considerato come un mezzo *sicuro* di disinfezione degli ambienti, neppure per quelle malattie, contro i germi delle quali si è addimostrato efficace nelle esperienze di laboratorio.

---

(1) Iaeger, « Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener chemischer Desinfectionsmittel bei kurz dauernder Einwirkung auf Infectionstoffe » (*Arbeiten a. d. kais. Ges.*, vol. V, 1889, p. 247).

Con ciò non intendo di dare l'ostracismo in maniera assoluta ad un mezzo, che si mostra pure efficace in altri casi (disinfezione delle feci); ma per la disinfezione degli ambienti, ritengo che esso debba sempre essere tenuto in seconda linea, se avvi altro mezzo, comodo altrettanto e più sicuro.

All'imbiancamento colla calce spetta invece un posto importante come mezzo di pulitura delle pareti non tappezzate, specialmente nelle abitazioni dei poveri, dove il sudiciume è assai grande e dove purtroppo la ripulitura si pratica assai di rado. Anzi in questi casi dovrebbe il latte di calce adoperarsi costantemente, ma dopo aver praticata la disinfezione delle pareti con mezzi più efficaci.

Havvi ancora un altro disinfettante, che è entrato da poco in linea fra quelli proposti per la disinfezione degli ambienti, ed è il *lisolo*. Questa sostanza, secondo le esperienze fatte da Gerlach (1), spruzzata sulle pareti in soluzione del 3 %, si addimostra assai più efficace dell'acido fenico al 5 %.

È da notarsi però che anche il lisolo ha un odore poco grato; e d'altronde le esperienze di Gerlach sono troppo poco numerose per poterlo senz'altro raccomandare, come egli fa, per la disinfezione degli ambienti; tanto più che Gerlach non ha fatto alcuna prova sui pavimenti, dove la quantità dei batteri, e quella del sudiciume col quale si trovan commisti, è molto maggiore che sulle pareti.

Aggiungo infine che, se Gerlach ha trovato che il lisolo al 5 % distrugge la virulenza degli sputi tubercolari dopo tre ore, ciò non basta per raccomandarlo per la disinfezione degli ambienti abitati dai tisici, giacchè il liquido disinfettante che bagna le pareti e il pavimento vi resta a contatto per un tempo molto minore. Io ho fatto fin dallo scorso anno un'esperienza analoga a quella di Gerlach, con analogo risultato, mettendo un nummulo di sputo tubercolare del peso di gr. 1,5 entro una capsula contenente 15 cc. di soluzione

---

(1) Gerlach, « Ueber Lysol » (*Zeitschr. f. Hygiene*, vol. 10°, 1891, p. 167).

di lisolo al 3 %, e inoculando dopo due ore una piccola porzione di sputo sotto cute a due cavie, le quali morirono di tubercolosi, una dopo 30 e l'altra dopo 35 giorni.

Dalla rivista fatta finora si può adunque dedurre, che il numero delle sostanze che potrebbero adoperarsi con successo per la disinfezione degli ambienti è assai limitato. La scelta non può cadere che sull'acido fenico, o sul lisolo, oppure sul sublimato corrosivo; e se si considera che i primi due non sono completamente efficaci che in proporzioni forti, che hanno un discreto valore e che lasciano dietro di sè per molto tempo un odore acuto, che per taluni riesce assolutamente insopportabile, non esito a concludere che il sublimato è l'unica sostanza che può servire in tutti i casi, con minori inconvenienti delle altre. Esso infatti non solo risponde bene a tutti i postulati, così bene formulati da Guttmann e Merke e già esposti poco sopra, ma ha pure il vantaggio che, non avendo alcun odore, non desta ripugnanza e non incontra quindi opposizione da parte del pubblico. Quest'ultima condizione è pure importante da considerarsi, specialmente ora che un tal genere di disinfezione ha bisogno di acquistare fiducia per un'estesa applicazione.

I vantaggi dell'uso di questa sostanza sono adunque incontestabili: vediamo ora quali sono gli inconvenienti che le vengono attribuiti.

L'appunto più grave è quello che, essendo il sublimato altamente velenoso, possa riuscire nocivo alla salute di chi opera la disinfezione e alle persone che vanno poscia ad abitare le stanze disinfettate.

E di ciò si preoccuparono subito Guttmann e Merke, i quali stabilirono che, per le persone addette al servizio basta di evitare che la soluzione di sublimato polverizzata vada loro a contatto degli occhi e della bocca, per allontanare qualsiasi pericolo di avvelenamento; ma pel sublimato deposto sulle pareti, proposero di polverizzarvi sopra una soluzione di car-

bonato di soda 1 %₀, per trasformare il sublimato in un composto fisso e insolubile (ossicloruro di mercurio) e quindi meno pericoloso.

Contro l'efficacia di tale precauzione, che costituisce una complicazione non lieve per l'intiero processo di disinfezione, Esmarch (1) ha sollevato giustamente la voce, obbiettando che anche l'ossicloruro di mercurio, se arriva nello stomaco, vien quivi trasformato egualmente in un prodotto solubile e assorbibile, per mezzo degli acidi del contenuto stomacale; cosicchè l'aggiunta della polverizzazione della soluzione sodica è assolutamente superflua, essendo inefficace per lo scopo a cui dovrebbe servire.

Ma per risolvere la questione, se il sublimato, che resta nell'ambiente dopo la disinfezione, può costituire realmente un pericolo per chi va ad abitarvi, non havvi, a mio avviso, che un mezzo soltanto: ed è quello dell'osservazione diretta, lungamente ripetuta. Non basta semplicemente supporre *a priori* che vi può essere un tale pericolo, per proscrivere l'uso del sublimato, come non basta l'esperienza che si è già fatta ripetutamente negli animali, tenendoli per parecchi giorni entro gabbie, bagnate continuamente di soluzioni di sublimato, senza che in essi siasi verificato alcun segno di avvelenamento, per ritenere senz'altro, che lo stesso accade anche per le persone che vanno negli ambienti disinfettati.

Bisogna piuttosto osservare ciò che avviene nella pratica, applicando il sublimato per la disinfezione delle abitazioni. A questo proposito ha un grande valore l'osservazione riferita da Gaffky (2) nella sua conferenza tenuta recentemente su questo argomento nel congresso degli igienisti a Braunschweig, che, cioè, nella Luigiana si adopera già da qualche anno nelle stazioni quarantenarie, per la disinfezione interna delle navi, secondo i precetti di Koch e di Gaffky (3), il subli-

(1) Lavoro citato.

(2) Gaffky, « Desinfection von Wohnungen » (*Deutsche Vierteljahrsschr. f. off. Gesundheitspflege*, vol. 23, 1891, p. 130).

(3) Koch e Gaffky, « Versuche über die Desinfection des Kiel- oder Bilgeraums von Schiffen » (*Arbeiten a. d. kais. Ges.*, vol. 1, 1886, p. 199).

mato e in quantità totale molto rilevante (fino a 26 kgr. per ogni nave), senza che si sia mai verificato per le persone il menomo inconveniente nelle parecchie centinaia di navi che furon già disinfettate con tal mezzo.

Egualmente dimostrativa è l'esperienza fatta da Krupin nelle baracche dell'ospedale di Pietroburgo, nelle quali si ricoverarono di nuovo le persone ammalate, o convalescenti, soltanto 24-48 ore dopo, e talvolta anche nella stessa giornata in cui si era praticata la disinfezione con 70-80 gr. di sublimato in soluzione all'1 $^0/_{00}$, senza che si notasse mai il più piccolo disturbo nei ricoverati.

Aggiungo infine l'osservazione mia personale, secondo cui la disinfezione degli ambienti col sublimato, messa in pratica già da due anni in questa città, in gran numero di casi (come dirò più sotto), non ha mai dato origine finora al più piccolo inconveniente, nè a danno delle persone che quotidianamente la mettono in opera, nè a danno di quelle che vanno poscia ad abitare le stanze disinfettate, per lo più il giorno seguente a quello in cui fu fatta l'operazione, trattandosi di persone povere che non ponno fare altrimenti.

Siffatti dati pratici hanno maggior valore di qualsiasi prevenzione, per quanto basata sulla reale tossicità del materiale che si adopera.

Nè la mancanza di questa temuta azione nociva del sublimato deve recar meraviglia, poichè si può spiegare con un triplice ordine di fatti, e cioè: 1° che la maggior parte di esso viene meccanicamente allontanata dall'ambiente, dopo terminata l'operazione; 2° che viene anche in parte neutralizzato dalle sostanze organiche (albuminoidi) che si trovano nella polvere, specialmente nel pavimento; 3° finalmente quello che resta sulle pareti e sul pavimento volatilizza a poco a poco, sicchè, diluito nell'aria, può essere respirato senza danno.

Si vede adunque che l'obbiezione più forte, che si è sempre fatta contro l'applicazione del sublimato per la disinfezione degli ambienti, si riduce ad un timore esagerato, che non trova in pratica alcuna conferma. Non parliamo di altre ob-

biezioni od appunti, fatti con minore o con nessun fondamento; come sarebbe ad es. quello di De Giaxa (1), il quale dice che « allorquando si adopera una di queste sostanze (acido fenico e sublimato) per lavare i muri, bisogna quasi sempre farli poscia imbiancare; ciò che, a causa della spesa ecc. ».

Al contrario: lasciando da parte l'acido fenico, il quale, per le ragioni già esposte, non può esser considerato che in seconda linea di fronte al sublimato, l'uso di quest'ultima sostanza ha appunto, oltre tutti gli altri, anche il vantaggio di lasciare perfettamente inalterate le pareti, sieno queste nude, oppure coperte da tappezzerie o da dipinti: cosicchè nessun'altra operazione è necessaria dopo il suo impiego. Ma di ciò, più sotto.

Se però è questo il mezzo migliore, non posso dire altrettanto della maniera con cui è stato finora applicato nella pratica. Difatti, seguendo i precetti primitivi di Guttmann e Merke hanno tutti proposto ed adoperato finora la soluzione di sublimato 1 $^{0}/_{00}$, o tutt'al più quella 2 $^{0}/_{00}$, tanto per le pareti come pel pavimento.

Ora, astrazione fatta da ciò, che dalle stesse esperienze di Guttmann e Merke è risultata un'azione insufficiente della soluzione 1 $^{0}/_{00}$, e che Krupin ha osservato lo stesso nelle baracche disinfettate con quella soluzione, si deve specialmente considerare il fatto, che le condizioni delle esperienze fatte coi fili di seta impregnati di microrganismi sono ben diverse da quelle che si verificano in un ambiente, dove i germi, specie nel pavimento, si trovano spesso intimamente commisti a sostanze organiche, che neutralizzano in parte l'azione del sublimato. Oltre a ciò, deve pure variare il tempo che il liquido disinfettante può restare a contatto col materiale da sterilizzare, a seconda della diversa natura del pavimento e del suo diverso grado di porosità.

M'è parso quindi importante di ripetere la prova direttamente sulle pareti, e di fare inoltre esperienze di confronto su pavimenti di natura diversa, per vedere appunto se il diverso

(1) Lavoro citato, p. 309.

grado di sudiciume, e la diversa qualità del materiale, di che il pavimento si compone, necessitino per la loro completa disinfezione un grado differente di concentrazione del materiale disinfettante. Ho preso di mira specialmente il pavimento, perchè è questa la parte dell'ambiente più importante da disinfettarsi, sia perchè vi si raduna un maggior numero di germi, cadenti direttamente dall'aria o portati colle scarpe di chi vi cammina, sia perchè quelli patogeni, emessi dalle persone malate (sputi, feci), vanno più facilmente ad imbrattare il pavimento, che non il resto dell'ambiente. Ho anche provato direttamente l'azione del sublimato sui germi più resistenti, fra quelli che conosciamo delle malattie infettive più comuni, che sono quelli della tubercolosi, contenuti negli sputi disseccati sul pavimento.

Riferisco ora in breve le esperienze fatte, per esporre in seguito il metodo con cui il sublimato, in base ai risultati di esse, è stato applicato, già da due anni, per la disinfezione degli ambienti nella città di Torino.

Per le pareti ho sempre applicato la polverizzazione del liquido disinfettante, fatta mediante uno speciale apparecchio, lasciando affatto in disparte la lavatura col pennello, la quale offre, in confronto colla polverizzazione, numerosi inconvenienti, già messi in chiaro dai precedenti osservatori.

Tali inconvenienti si riassumono in ciò che: 1° la soluzione che si adopera, col ripetuto immergervi del pennello, che trascina seco la polvere o il colore delle pareti, presto si sporca e imbratta così la parete o la tappezzeria che la copre; 2° il pennello facilmente distacca i colori, specialmente quelli a guazzo, dei dipinti e quelli delle tappezzerie ordinarie; 3° e questo è il più importante di tutti, la lavatura semplice delle pareti agisce meccanicamente, distaccando i germi che vi sono aderenti, piuttostochè ucciderli in sito, come ha provato Esmarch, dimostrando che il grado di concentrazione della soluzione, che si adopera per la lavatura, ha poca o nulla influenza sull'effetto disinfettante che se ne ottiene.

Adoperando, invece, le stesse soluzioni, ma polverizzate, in

modo che le pareti ne restino impregnate lungamente, l'effetto sterilizzante che ne risulta è molto maggiore. Per tali ragioni deve incontestabilmente avere la preferenza sulla lavatura la polverizzazione del liquido, fatta sulle pareti in modo, che esso le bagni completamente, senza scolare lungo le stesse.

A tale scopo Guttmann e Merke hanno proposto un polverizzatore ordinario di vetro e guttaperca, con doppia palla di gomma, che si fa agire colla mano o col piede.

Sperimentando però con questo apparecchio nell'Ufficio d'Igiene, ci siamo presto convinti che esso offre, per la pratica giornaliera, inconvenienti non piccoli, quali sono la fatica notevole che deve farsi per tenerlo in azione, il dovere ad ogni tanto smontare l'apparecchio per riempirlo di liquido e finalmente la sua fragilità, essendo la parte che polverizza fatta di vetro. È perciò che si è cercato di sostituirlo con un altro, che fosse egualmente portatile e maneggiabile da una sola persona, ma che in pari tempo fosse più solido e si potesse manovrare con lieve fatica. A questi principii parve dapprima rispondesse abbastanza bene la pompa spruzzatrice, che comunemente si adopera per polverizzare sulle viti la soluzione di solfato di rame, destinato a proteggerle dall'invasione della « peronospora viticola ». Per renderla adatta alle polverizzazioni della soluzione acida di sublimato, si fece costrurre il recipiente in legno, sostituendo in pari tempo tutte le parti metalliche (corpo della pompa, polverizzatore, ecc.) con altre formate da ebanite, la quale, come è noto, non viene attaccata nè dagli acidi nè dal sublimato; e difatti con queste semplici modificazioni un tale apparecchio è stato adoperato parecchi mesi per la disinfezione degli ambienti in Torino. Col lungo uso, però, si manifestò l'inconveniente che le viti metalliche, che uniscono il corpo di pompa al recipiente, vengono a poco poco corrose dal liquido, il quale talora fuoresce anche dalle mmissure del legno, non appena questo si dissecca, allorando non viene continuamente adoperato.

Si pensò allora di modificare ulteriormente l'apparecchio, fando costruire in vetro il recipiente pel liquido e distaccando

da esso il corpo di pompa. L'apparecchio che ora si adopera (1), come viene rappresentato dal presente disegno, corrisponde benissimo a tutte le condizioni volute: solidità e maneggio



facile e non troppo faticoso. Il peso totale del recipiente, pieno di liquido (20 litri), attaccato alle spalle di chi fa la polve-

(1) Quest'apparecchio è stato costrutto dalla Ditta Zambelli e C°, via Ospedale 16, e trovasi in vendita presso questa Ditta al prezzo di L. 130.

rizzazione, non supera quello di un zaino da soldato (circa 30 kgr.).

La pompa premente, di ebanite, non pesa che 1 kgr. circa e si fa agire colle due mani a mo' di soffietto; essa è munita superiormente di una camera d'aria dove questa si condensa, cosicchè, dopo i primi colpi ripetuti a breve distanza per metterla in azione, l'aria condensata seguita a cacciar fuori il liquido polverizzato, e allora non fa più bisogno che fare agire la pompa di quando in quando, per mantenere costante la pioggia liquida che viene cacciata contro le pareti. La parte di liquido che non resta polverizzata e che potrebbe sgocciolare sulla persona che maneggia l'apparecchio, viene raccolta da una coppa di gomma elastica, che si trova sotto il polverizzatore.

In tal guisa una sola persona può, senza interrompere il lavoro, spruzzare di liquido tutta quanta la superficie delle pareti di una stanza ordinaria, in un'ora o poco più.

Posso affermare, fin d'ora, che non havvi pericolo alcuno per chi opera lo spruzzamento, giacchè il personale che vi è addetto, che è sempre lo stesso, non ha mai sofferto finora il benchè menomo disturbo.

Quanto alla maniera colla quale furono condotte le mie esperienze, ho cercato anzitutto di tenermi nelle condizioni che si trovano in pratica, per poterne trarre deduzioni più sicure per l'oggetto del lavoro, che era quello di giustificare, sotto ogni rapporto, l'applicazione del sublimato, come mezzo generale di disinfezione degli ambienti.

Non ho quindi adoperato nè fili di seta, nè altro materiale impregnato di culture di microrganismi, ma ho fatto direttamente la prova sulle pareti e sui pavimenti, nello stato in i si trovano quando devonsi disinfettare, esaminando poscia teriologicamente la superficie disinfettata, per vedere se questa esistevano ancora germi viventi, e se si era quindi ggiunto, o no, completamente lo scopo. Ho soltanto talvolta

aggiunto ad arte un materiale di prova, per controllare con maggior sicurezza l'efficacia del mezzo adoperato; e il materiale da me usato è stato lo sputo tubercolare, ricco di bacilli, i quali costituiscono appunto il virus che conosciamo più resistente, fra quelli delle infezioni più comuni.

In tal guisa, dopo aver polverizzato sulle pareti la soluzione disinfettante in maniera adatta e sufficiente, aspettava che il liquido fosse tutto assorbito, e poscia copriva una certa estensione di parete con una specie di scatola di tela, fissata per mezzo di piccoli chiodi, in modo che fosse impedito l'accesso alla polvere, senza che fosse impedita completamente l'evaporazione dalla parete bagnata.

Sul pavimento praticava dapprima la lavatura e lo sfregamento con spazzole rudi, ripetendo due volte l'operazione, e poscia, dopo avere accuratamente colla stessa spazzola allontanato il liquido di lavamento, vi deponeva sopra una grossa campana di vetro, comprendente una superficie di 160 cm. q. all'incirca.

Quando ho adoperato lo sputo tubercolare, l'ho deposto sul pavimento diviso a nummuli e, dopo averlo lasciato disseccare completamente, ho operato la lavatura e lo sfregamento come sopra.

Dopo 24-48 ore, togliendo la scatola di tela dalle pareti e la campana dal pavimento, si trovava la superficie completamente asciutta, e da questa si prendeva il materiale per le culture, sia col metodo Esmarch, stropicciandovi sopra fortemente pezzi di spugna umidi, sterilizzati, sia raschiando la superficie.

Nel primo caso le spugne, nell'altro il materiale raschiato venivano mescolati colla gelatina nei tubi arrotolati alla Esmarch, oppure inoculati negli animali, secondo i casi.

In pari tempo, per controllo, si eseguivano le stesse operazioni su di un tratto di parete o di pavimento, dove non si era fatta agire la soluzione disinfettante.

Ho incominciato le esperienze applicando la soluzione di sublimato 1 $^{0}/_{00}$ nell'acqua semplice o nell'acqua acidulata con

HCl 5 $^0/_{00}$; e dico subito, per brevità, senza riferire alcuna esperienza in dettaglio, che questa soluzione si è manifestata insufficiente, tanto sui pavimenti come sulle pareti, fossero queste nude o coperte da tappezzeria.

Tubi alla Esmarch, seminati colle spugne stropicciate sulle pareti e sui pavimenti, bagnate e lavati con quella soluzione, mostrarono sempre lo sviluppo di un grandissimo numero di microrganismi. In un pavimento a mattoni, nella polvere del quale l'innesto nelle cavie avea dimostrato la presenza del bacillo del tetano, ripetendo la prova dopo la lavatura col sublimato 1 $^0/_{00}$, colla polvere presa da una commessura del tratto lavato, dove era quindi da supporsi che il sublimato avesse dovuto raccogliersi in maggior copia e fermarsi più a lungo, si manifestò il tetano negli animali, come prima.

Ho fatto anche la prova sullo sputo tubercolare, disseccato sui pavimenti e raccolto col raschiamento dopo la lavatura. Debbo dire a questo proposito che, se si tratta di sputi disseccati sull'ammattonato comune, è necessario uno sfregamento molto energico e ripetuto, per distaccare completamente lo sputo dal mattone, mentre dai pavimenti lisci si distacca facilmente.

4 febbraio 1889. — Si inoculano 2 cavie sotto cute, nella parte interna della coscia, coi residui di sputo raccolti dal pavimento dopo la lavatura col sublimato all' 1 $^0/_{00}$, e un'altra cavia collo sputo semplicemente disseccato. Dopo 20 giorni in quest'ultima si nota nel luogo di innesto la cute usurata da un processo di infiammazione lenta, accompagnata da produzione di pus denso, e nella piega inguinale corrispondente una ghiandola linfatica grossa come un acino di granturco. Nelle altre due cavie, invece, la cute è integra, ma si nota eguale ingrossamento della ghiandola inguinale. Uccise le cavie, si trovano in tutte abbondanti i bacilli tubercolari nella ghiandola tumefatta, e nella cavia di controllo gli stessi bacilli anche nel pus della piaga esterna.

La soluzione disinfettante avea adunque distrutto soltanto i microrganismi, che nello sputo erano commisti con quelli della tubercolosi, e che probabilmente provocarono la suppurazione locale nella cavia di controllo.

Le stesse esperienze le ripetei dapprima sulle pareti colla soluzione 2 $^0/_{00}$, semplice o acidificata, e con questa ho trovato che si avea una diminuzione notevolissima, ma non sempre la scomparsa completa dei germi. Colla soluzione 3 $^0/_{00}$, acidificata con *HCl* 5 $^0/_{00}$, ottenni invece sempre, tanto nelle pareti semplicemente intonacate, come in quelle coperte da tappezzeria, la distruzione completa dei germi che vi erano aderenti. Basti il riferire qui dal mio registro una delle esperienze fatte in proposito, che diedero tutte risultati concordi.

21 febbraio '89. — Dopo praticata sulle pareti coperte da tappezzeria (camera del laboratorio), la polverizzazione della soluzione di sublimato 3 $^0/_{00}$, si copre, come sopra, un certo tratto di superficie e dopo 24 ore si fa la prova colle spugne sterilizzate, facendo 2 saggi dalla parete non bagnata e 2 da quella bagnata ed asciugata, con questi risultati:

1° tubo parete semplice	121	colonie
2° » »	89	»
1° tubo parete bagnata sublimato 3 $^0/_{00}$	0	»
2° » » » »	0	»

Eguale risultato ottenni anche applicando la stessa soluzione sopra pareti intonacate, più ricche di microrganismi (2 soffitte e 1 stalla).

Per le pareti adunque, con un titolo di soluzione relativamente basso, si può ottenere in ogni caso una disinfezione completa. Per esse, come pei pavimenti, è sempre da preferirsi la soluzione nell'acqua con *HCl* alla soluzione nell'acqua semplice o nell'acqua salata; sia per la sua attività e conservazione maggiori, sia perchè nelle abitazioni dei poveri anche le pareti si trovano spesso molto imbrattate di sudiciume, e sia anche per avere un'uniformità di preparazione delle soluzioni che servono per le pareti e pel pavimento, le quali, come dirò, si preparano con una stessa soluzione madre.

Nulla del resto a ciò si oppone; non il prezzo dell'HCl, che è quasi insignificante e neppure il timore che la presenza dell'acido possa nuocere alle tappezzerie o ai dipinti. Ho ripetuto colla soluzione acida le stesse prove, già fatte da Guttmann e Merke colla soluzione acquosa semplice di sublimato, sulle diverse specie di tappezzerie ed ho avuto risultati perfettamente concordi; giacchè nessuna delle numerose qualità di tappezzeria (circa 40, di ogni prezzo) da me provate con quella soluzione dinanzi alla società d'igiene locale (seduta dell'8 febbraio 1890), mostrarono la benchè menoma alterazione, ed apparvero anzi, dopo bagnate, più lucenti e più belle.

Non restano alterati neppure i dipinti, sia a guazzo, come ad olio; ed è soltanto l'indoratura delle cornici che talvolta, quando è scadente, diviene più scura ed opaca.

PAVIMENTO.

È riguardo alla disinfezione del pavimento che ho fatto il maggior numero di esperienze, sia per l'importanza massima che esso ha nella disinfezione di un ambiente, sia perchè già *a priori*, come ho detto, non mi parea possibile si potesse applicare in tutti i casi la stessa soluzione, per ottenerne la disinfezione.

Ho sperimentato quindi con diversi gradi di soluzione, su pavimenti più o meno sudici e composti da materiali diversi.

I materiali che da noi più comunemente si adoperano pei pavimenti sono i mattoni, semplici o verniciati (sangue di bue ed olio, o vernice), le mattonelle di terra compressa e lucide (di Marsiglia, di Vado, ecc.), il legno semplice o lucido, il cemento e l'asfalto.

Su tutte queste qualità di pavimento, in condizioni di varia nettezza, ho sperimentato il sublimato a diverso grado di concentrazione, in soluzione acida, la quale meglio corrisponde per ottenere da esso un massimo di azione deleteria sui batteri, commisti a sostanze organiche. Delle numerose esperienze, fatte nel corso di un anno intiero, riferisco qui un esempio per ciascuna specie di pavimento.

1° *Pavimento ad ammattonato semplice*. — È questa la qualità più interessante dal nostro punto di vista, perchè è più comune nelle abitazioni dei poveri, dove appunto occorre più di frequenti di dovere praticare la disinfezione, perchè, essendo molto poroso, facilmente si impregna delle sostanze che vi si depositano, e finalmente perchè, offrendo numerose commessure, specie se non è in buono stato, offre le condizioni più propizie pel raccogliersi del sudiciume e le meno propizie, invece, per la disinfezione.

L'esperimento che qui riferisco si fece in un camerone di un quartiere militare, dove il pavimento era molto usato e presentava numerose e profonde commessure, ripiene di polvere e di sporcizie. L'esperienza fu condotta nel modo già descritto, raccogliendo due saggi dal mattone e due dalla commessura, per ciascuna campana. L'esperimento fu fatto dapprima colla soluzione acida di sublimato al 2, 3, 4 e 5 ‰, coprendo con una campana i tratti lavati con ciascuna di dette soluzioni.

La lavatura fu fatta il giorno 19 settembre 1889 e la seminazione dei tubi alla Esmarch dopo 48 ore, a pavimento perfettamente asciutto. In questa, come in tutte le altre esperienze, l'esame dei tubi si fece in tempi diversi, a seconda del numero di colonie che si sviluppavano in essi; quelli che ne aveano poche, o nessuna, si tennero in osservazione fino a 30 giorni. Si fece sempre in pari tempo una seminagione di controllo col pavimento non lavato ed un'altra con un pezzo delle spugne sterilizzate, che si adoperavano per l'esperienza.

Tabella I.

Titolo della soluzione acida di sublimato	Mattone		Fessura		Tubo mattone non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo	1° tubo	2° tubo		
2 ‰	innumerevoli	innumerevoli	innumerevoli	innumerevoli	innumerevoli	0
3 ‰	»	»	»	»	»	»
4 ‰	141	98	228	178	»	»
5 ‰	48	34	94	101	»	»

Visto da queste prove il risultato incompleto della disinfezione, applicai sullo stesso pavimento la soluzione al 6 °/₀₀ e all'8 °/₀₀, con questi risultati:

Tabella II.

Titolo della soluzione acida di sublimato	Mattone		Fessura		Tubo mattone non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo	1° tubo	2° tubo		
6 °/₀₀	28	19	22	34	innumerevoli	0
8 °/₀₀	0	0	0	0	»	0

Noto che lo sviluppo delle colonie nei tubi di seminagione del mattone e della fessura 6 °/₀₀ incominciò soltanto dopo 10 giorni; i tubi 8 °/₀₀ si tennero in osservazione per oltre un mese, senza che si notasse sviluppo di sorta.

Le stesse prove furono ripetute nel pavimento di diverse soffitte, in una stanza del laboratorio che serve per le esperienze negli animali e in una stalla, con risultati sempre concordi con quello dell'esperienza suesposta.

Si vede adunque qual titolo relativamente alto di soluzione sia necessario, per ottenere col sublimato una disinfezione sicura e completa dei pavimenti ad ammattonato semplice, e come la soluzione 2 °/₀₀, finora adoperata, riesca assolutamente insufficiente.

In seguito si vedrà come per gli altri pavimenti, anche sudici, bastano proporzioni minori di sublimato per disinfettarli; cosicchè le ragioni di questa sua minore attività nei pavimenti ad ammattonato devono ricercarsi non soltanto nella grande quantità di materiale organico e di batteri che vi si raccoglie, specialmente nelle fessure, ma anche nelle qualità fisiche e chimiche del materiale. Difatti la sua grande porosità fa sì che la soluzione venga rapidamente assorbita, senza

restare a lungo in contatto colle sostanze da disinfettare, e i carbonati che contiene il mattone, neutralizzando l'acido cloridrico della soluzione, fan sì che il sublimato, come nelle soluzioni acquose semplici, precipiti in parte colle sostanze albuminoidi, perdendo così della sua attività.

E difatti, mentre sperimentando sul pavimento in legno avea notato che la soluzione acida, corrispondentemente a quanto fu osservato da Laplace e confermato da Fränkel e da altri, si mostra più attiva delle corrispondenti soluzioni in acqua semplice e in acqua salata, sperimentando invece con queste tre qualità di soluzione nel pavimento a mattoni, si osserva che non v'ha differenza fra il potere disinfettante spiegato dalla soluzione acida, in confronto delle altre due.

Ciò vien dimostrato dall'esperienza seguente, fatta sul pavimento a mattoni di una stanza del laboratorio, che veniva spazzata non molto spesso, ed era quindi discretamente polverosa.

Tabella III.

Soluzioni e titolo di esse	Mattone		Fessura		Tubo mattone non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo	1° tubo	2° tubo		
Sublimato in acqua semplice . . . . 2 ‰	assai numerose	assai numerose	assai numerose	assai numerose	innumerevoli	una muffa
» » 4 ‰	superiori al centinaio	superiori al centinaio	superiori al centinaio	superiori al centinaio	»	0
» » 5 ‰	15	11	42	34	»	0
Sublimato in acqua salata (*Na Cl* 1 %) 2 ‰	numerosissime	numerosissime	numerosissime	numerosissime	»	0
» » 4 ‰	assai numerose	assai numerose	assai numerose	assai numerose	»	0
» » 5 ‰	32	41	89	72	»	0
Sublimato in acqua acidula (*HCl* 5 ‰) 2 ‰	assai numerose	assai numerose	assai numerose	assai numerose	»	0
» » 4 ‰	superiori al centinaio	superiori al centinaio	superiori al centinaio	superiori al centinaio	»	0
» » 5 ‰	23	34	81	67	»	0

2° *Pavimento a mattoni coperti da vernice o da sangue di bue.* — Questo genere di pavimento per le sue qualità fisiche si avvicina a quelli di asfalto e di cemento. Spesso però la vernice si screpola e si distacca, e nelle fessure si accumula il sudiciume. Ad ogni modo la disinfezione completa di questi pavimenti si ottiene con una soluzione di sublimato più tenue di quella necessaria pei mattoni semplici, come si vede dal quadro di una delle esperienze fatte sul pavimento della biblioteca del laboratorio, in cui la vernice che copriva i mattoni in molti punti era usurata completamente.

Tabella IV.

Soluzioni e titolo di esse	Mattone		Fessura		Tubo pavimento non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo	1° tubo	2° tubo		
Sublimato acido 2 ‰	38	24	18	27	innumerevoli	0
» » 3 ‰	13	11	17	22	»	»
» » 4 ‰	4	6	5	10	»	»
» » 5 ‰	1	0	2	1	»	»

La soluzione al 4 ‰ lascia adunque viventi soltanto pochi germi e quella al 5 ‰ si può dire riesca assolutamente efficace.

L'esperienza fu ripetuta anche in una stanza dell'Ufficio d'igiene, con pavimento ad ammattonato coperto da sangue di bue, ben conservato, dove era un viavai continuo di gente che imbrattava di polvere il pavimento.

Tabella V.

Soluzioni e titolo di esse	Pavimento lavato		Tubo pavimento non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo		
Sublimato acido 2 °/₀₀	12	8	innumerevoli	0
» » 3 °/₀₀	4	2	»	»
» » 4 °/₀₀	0	0	»	»
» » 5 °/₀₀	0	0	»	»

In questo caso si vede come, per quanto il pavimento fosse sudicio abbastanza, pure, essendo a superficie liscia e uniforme e poco poroso, fu sufficiente la soluzione 4 °/₀₀ per disinfettarlo completamente.

3° *Pavimento a mattonelle lucide* (di Marsiglia). — Questi pavimenti, che si trovano d'ordinario nelle abitazioni delle persone agiate, sono in generale sempre puliti, anche perchè è facile nettarli, essendo liscia la superficie e strette le commissure fra l'una e l'altra mattonella. E difatti basta una soluzione di sublimato non molto concentrata, per disinfettarli completamente.

Tabella VI.

Soluzioni e titolo di esse	Mattone		Fessura		Tubo pavimento non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo	1° tubo	2° tubo		
Sublimato acido 2 °/₀₀	11	4	2	6	innumerevoli	0
» » 3 °/₀₀	1	1	2	0	»	»
» » 4 °/₀₀	0	0	0	0	»	»
» » 5 °/₀₀	0	0	0	0	»	»

4° *Pavimento di cemento battuto e di cemento a quadrelli.* — Vale anche per questi quanto si è detto pel precedente, colla differenza che il cemento battuto, non presentando commessura alcuna, si disinfetta più facilmente di quello a quadrelli e delle mattonelle.

Tabella VII (*quadrelli di cemento*).

Soluzioni e titolo di esse	Pavimento lavato		Tubo pavimento non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo		
Sublimato acido 2 ‰	4	12	innumerevoli	0
» » 3 ‰	0	0	»	0
» » 4 ‰	0	0	»	0
» » 5 ‰	0	0	»	0

Tabella VIII (*cemento battuto*).

Soluzioni e titolo di esse	Pavimento lavato		Tubo pavimento non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo		
Sublimato acido 2 ‰	2	0	innumerevoli	0
» » 3 ‰	0	0	»	0
» » 4 ‰	0	0	»	0
» » 5 ‰	0	0	»	0

Il cemento, essendo perfettamente liscio e impermeabile, offre da un lato condizioni non favorevoli a che il sudiciume vi si trattenga e dall'altro si trova nelle migliori condizioni, per esser disinfettato mediante la lavatura.

Questo ci spiega come sia sufficiente per esso un titolo di soluzione uguale a quello determinato per le pareti.

5° *Pavimento d'asfalto*. — Per questo riferisco i risultati di un'esperienza fatta nello stesso camerone di caserma, nel quale fu fatta l'esperienza sui mattoni, a cui si riferiscono le Tab. I e II, e che avea il pavimento d'asfalto nella parte mediana e di mattoni nelle parti laterali. Il pavimento era un po' sgretolato, ed era forse anche più sporco nelle parti mediane che in quelle laterali; e tuttavia bastò una soluzione più tenue di sublimato per ottenerne la disinfezione, come si vede nella seguente

Tabella IX.

Soluzioni e titolo di esse	Pavimento lavato		Tubo pavimento non lavato	Tubo spugna semplice
	1° tubo	2° tubo		
Sublimato acido 2 °/₀₀	15	36	innumerevoli	1
» » 3 °/₀₀	12	4	»	0
» » 4 °/₀₀	12	1	»	»
» » 5 °/₀₀	0	1	»	»

Questo esempio ne dimostra come e la quantità di sudiciume e le qualità fisiche del pavimento, ma specialmente queste ultime, hanno influenza sull'effetto utile del disinfettante. Difatti l'asfalto, dal nostro punto di vista, se ben conservato, offre condizioni uguali, press'a poco, a quelle del cemento, e ciò nonostante è stato necessario per disinfettare questo pavimento un grado più alto di concentrazione del sublimato, che pel pavimento in cemento, perchè l'asfalto era in molti punti usato e perchè vi era una gran copia di sudiciume: d'altronde però la disinfezione in esso si ottenne completa con una soluzione più tenue di quella necessaria pei mattoni della essa stanza, i quali erano anche meno imbrattati. Un'altra rova, fatta in un pavimento d'asfalto ben conservato e recente, diede risultati concordi con quelli ottenuti nei pavienti in cemento.

6° *Pavimenti in legno.* — **Anche di questi la disinfezione è facile, come per quelli in cemento, sia perchè trovandosi generalmente nelle case di persone agiate non sono mai molto sporchi, e sia anche perchè sono in buone condizioni per essere disinfettati col processo descritto.**

Le esperienze ripetute su pavimenti in legno semplice e su quelli in legno lucido hanno sempre dimostrato sufficiente la soluzione acida di sublimato 3 °/₀₀ e talvolta anche quella 2 °/₀₀.

In questi pavimenti ho ripetuto la prova dello sputo tubercolare disseccato, facendo la lavatura colla soluzione 3 °/₀₀; e questa volta le cavie inoculate colla raschiatura del pavimento dove si era fatto disseccare lo sputo, raccolta dopo la lavatura, restarono incolumi, e morì invece di tubercolosi, dopo 42 giorni, la cavia di controllo inoculata collo sputo secco.

I risultati delle esperienze hanno adunque completamente confermato le previsioni logiche esposte in principio. Non si può adoperare una soluzione unica di sublimato per tutti i pavimenti indistintamente, ma è necessario invece adoperare soluzioni di titolo diverso, a seconda del grado di imbrattamento e specialmente a seconda della qualità del materiale di che il pavimento si compone.

Sotto questo riguardo, il materiale migliore è il cemento e il peggiore è il mattone ordinario. Per questo son necessari titoli di soluzione abbastanza elevati, per le ragioni che abbiamo già esposte.

Volendo applicare in pratica i risultati ottenuti, mi è parso di potere razionalmente prescrivere per i diversi pavimenti i seguenti titoli di soluzione:

1. Pavimenti di ammattonato semplice . . 7-8 °/₀₀

2. Pavimenti a mattoni verniciati, od altri non ben conservati, o molto sporchi . . . . . . 4-5 °/₀₀

3. Pavimenti di mattonelle di Marsiglia, di cemento, di legno e pavimenti verniciati o d'asfalto, ben conservati e non molto sporchi . . . . . . 3 °/₀₀

È dietro tali norme appunto, che fino dal 15 agosto 1889 si pratica in Torino, per opera dell'Ufficio d'Igiene municipale, la disinfezione degli ambienti, procedendo come segue:

In seguito a denunzia del medico, od anche privata, che una persona colpita da una di quelle malattie, di cui qui sotto è esposto l'elenco, è morta, o è stata condotta all'ospedale, oppure è andata a guarigione, l'Ufficio d'Igiene manda nella respettiva abitazione due uomini istrutti sulla maniera di fare il servizio, muniti di tutto il necessario per la disinfezione, e cioè:

1° L'apparecchio già descritto per la polverizzazione del liquido disinfettante sulle pareti;

2° Una piccola cassetta di legno, dove si contengono due bottiglie da un litro per la *soluzione madre* di sublimato, un recipiente di zinco della capacità di un litro, per misurare l'acqua che serve a preparare le soluzioni, e due provette graduate, della capacità di 100 e di 500 centimetri cubici, per determinarne il titolo;

3° Una secchia di legno della capacità di 10 litri, per fare il miscuglio dell'acqua col sublimato;

4° Una specie di accappatoio di tela impermeabile per le persone che fanno la disinfezione.

La « soluzione madre » di sublimato si prepara prima in grandi quantità nelle proporzioni seguenti:

Sublimato	Kgr.	12
Acido cloridrico . .	litri	20

Si scioglie dapprima il sublimato nell'acido in un mortaio, si versa entro un barilotto di vetro, munito di robinetto, e vi si aggiunge tanta acqua, fino a portare il volume della soluzione a 40 litri. In tal modo ogni 10 cc. di soluzione madre contengono:

Sublimato	gr.	3
HCl	cc.	5.

Le soluzioni adatte per la disinfezione delle pareti e dei pavimenti, nei singoli casi, si preparano ogni volta estemporaneamente mescolando:

10 cc. di soluzione madre per un litro d'acqua (soluzione 3 $^0/_{00}$) per le pareti e pei pavimenti che appartengono alla categoria N. 3.

15 cc. di soluzione madre per un litro d'acqua (soluzione 4,5 $^0/_{00}$) pei pavimenti della categoria N. 2.

25 cc. di soluzione madre per 1 litro d'acqua (7,5 $^0/_{00}$) pei pavimenti della categoria N. 1.

Il personale addetto alla disinfezione, secondo tali istruzioni che tiene stampate, prepara sul luogo i liquidi necessari per le pareti e pel pavimento, mediante la soluzione madre di sublimato, ed è sotto la sorveglianza di un medico addetto al Laboratorio batteriologico, a cui spetta la direzione dei servizi di disinfezione.

I due uomini di servizio, appena giunti sul luogo, indossano il vestiario di tela impermeabile, preparano le soluzioni e, dopo avere involto in lenzuola bagnate colla soluzione di sublimato 3 $^0/_{00}$ tutti gli oggetti letterecci ed altri che debbono venire sterilizzati nella stazione di disinfezione, radunano nel mezzo della stanza tutto il resto e procedono poscia alla lavatura del pavimento, affinchè i germi, che si distaccano dalle pareti nell'atto della polverizzazione del liquido, cadendo nel sublimato, restino distrutti. Fatto questo, passano a spruzzare di soluzione disinfettante, polverizzata, tutta quanta la superficie delle pareti, compresi i vetri e le imposte delle finestre e delle porte, finchè essa appare completamente e uniformemente bagnata e cominciano a raccogliersi gocciole di liquido piuttosto grosse.

L'operazione si termina pulendo attentamente la superficie degli oggetti, che non poterono essere inviati alla stazione di disinfezione, mediante stracci imbevuti della soluzione di sublimato 3 $^0/_{00}$.

Quanto al soffitto, la disinfezione di esso si pratica soltanto pei casi di vajuolo, scarlattina, morbillo e tifo esantematico, e si trascura in tutti gli altri, non essendovi probabilità che vi si depositino i germi delle altre malattie, che sappiamo in qual maniera vengono espulsi dagli infermi. A ciò si è condotti anche dal fatto, posto in chiaro dalle ricerche quantitative dei germi contenuti sulla superficie interna delle stanze, ricerche che hanno dimostrato che sulle pareti il numero dei

germi diminuisce a grado a grado che si va in alto, finchè sul soffitto si trovano in minima quantità.

Unitamente alla disinfezione della stanza abitata dall'infermo si pratica pure la disinfezione della latrina, ed eventualmente anche di altre stanze (del luogo ad es. ove furono depositati oggetti di biancheria sporchi, ecc.).

Per ogni disinfezione è stabilita una tassa di L. 5, che viene pagata non dal locatario, ma dal proprietario della casa.

Le malattie per le quali si pratica la disinfezione degli ambienti sono, press'a poco, quelle indicate per la denuncia dalla legge sulla tutela dell'igiene e della sanità pubblica, 22 dicembre 1888, e cioè: il morbillo, la scarlattina, il vajuolo, il tifo addominale, il tifo esantematico, la difterite, il crup, la febbre puerperale, la rabbia, il colèra e la tubercolosi.

STATISTICA DELLE DISINFEZIONI

praticate con questo sistema dal 15 agosto 1889 a tutto luglio 1891

Tubercolosi	morte	715	= 821
	ospedale	106	
Difterite	morte	142	= 327
	guarigione	1	
	ospedale	184	
Tifo	morte	129	= 207
	ospedale	78	
Morbillo	morte	175	= 180
	ospedale	5	
Vajuolo	morte	17	= 56
	guarigione	4	
	ospedale	35	
Scarlattina	morte	8	= 11
	ospedale	3	
Carbonchio	morte		1
Polmonite	»		1
		Totale	1604

Dalle informazioni che ebbi cura di fare assumere in proposito risulta che in nessun caso, come ebbi già a dire in principio, nelle persone che andarono ad abitare gli ambienti disinfettati, in generale 24, tutt'al più 48 ore dopo, si ebbe a verificare il menomo disturbo, che ascriver si potesse al sublimato adoperato per la disinfezione.

Come facea osservare giustamente Löffler (1) nella discussione fatta sulla relazione di Gaffky, già citata, lamentando che questi avesse lasciato troppo in disparte il sublimato, quella parte di esso che resta aderente al pavimento e alle pareti dopo la disinfezione, volatilizzando lentamente, resta nell'aria diluito in modo che, respirato, anzichè nocivo, può riuscire utile invece per la profilassi di certe malattie, specialmente della difterite, il cui agente persiste nella bocca e nella faringe delle persone malate, per qualche giorno dopo guarita la malattia.

Riguardo alle persone addette alle disinfezioni, per quanto non si sia per esse applicato alcun apparecchio di filtrazione dell'aria di respirazione, come viene usato ad es. a Berlino, non si è mai osservato nè disturbo alcuno derivante dal sublimato, nè lo sviluppo di malattie infettive in relazione col disimpegno del loro ufficio.

Il tempo che viene impiegato per ogni disinfezione varia, naturalmente, secondo la grandezza degli ambienti, ma per le stanze di media grandezza (60-70 m. c.) non oltrepassa le due ore; e la disinfezione viene compiuta senza che il personale si stanchi soverchiamente, per l'uso dell'apparecchio polverizzatore e pel resto dell'operazione.

Il costo è anche piccolo, giacchè per ogni stanza della grandezza anzidetta si impiegano in media 10 litri di liquido per le pareti e 4 pel pavimento; il che è quanto dire che in media occorrono 30 gr. di sublimato per le pareti e da 12 a 30 gr. pel pavimento, secondo la qualità di esso.

La soluzione acida di sublimato che si adopera per le pa-

---

(1) *Deutsche Vierteljahrss. f. öffentl. Gesundheitspflege*, p. 149, 1891.

reti non altera menomamente, come ho già accennato, nè le tappezzerie, nè i dipinti, cosicchè non vi è mai bisogno di altre operazioni dopo la disinfezione. L'imbiancamento col latte di calce si adopera soltanto, come semplice mezzo di nettezza, per le pareti non tappezzate e sudicie, dopo averne però praticata la disinfezione col sublimato.

Dopo tutto ciò, non esito a concludere che nessun altro dei processi, proposti e messi in opera fin ora per la disinfezione degli ambienti, può competere, per tutte le condizioni a cui deve soddisfare per esser pratico ed efficace, con questo sopra descritto, non escluso quello che è ora in vigore a Berlino, quale viene descritto da Merke in una recente pubblizione (1).

A Berlino infatti per le pareti tappezzate o dipinte si adopera la pulitura meccanica col pane e per le pareti semplicemente intonacate il latte di calce, e il pavimento si lava dapprima con una soluzione di sapone verde e poscia coll'acido fenico al 5 %.

Quanto al latte di calce, ho già detto come questo riesca assolutamente inefficace contro i bacilli tubercolari e come, oltre a ciò, l'esperienza diretta fatta sulle pareti imbiancate abbia dimostrato che sotto lo strato di calce si trovano ancora viventi alcuni dei microrganismi, che si trovavano sulla superficie della parete prima dell'imbiancamento. Quindi è che un tal mezzo non potrà assolutamente adoperarsi pei casi di tubercolosi, e per le altre malattie dovrà sempre considerarsi di dubbia efficacia. Dobbiamo invece raccomandare caldamente l'impiego del latte di calce, per imbiancare e ripulire le pareti delle abitazioni dei poveri, dopo averne praticata la disinfezione col sublimato.

Quanto all'uso del pane, oltre gli inconvenienti già esposti riguardo al tempo lungo e alla diligente applicazione che esso richiede, debbo aggiungere anche la complicazione non lieve,

---

(1) Merke, « Die Wohnungsdesinfection der Stadt Berlin » (*Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege*, vol. 23, 1891, p. 258).

che si è a Berlino ritenuta necessaria nei casi in cui le stanze sono ricche di polvere, ed è di spruzzare le pareti, già pulite col pane, con una soluzione d'acido fenico 2 %; complicazione la quale, non solamente importa un aumento di tempo e di spesa, ma è inoltre superflua, non potendosi attribuire all'acido fenico 2 % un'azione disinfettante efficace. Non parliamo poi dell'odore fastidioso che lascia dietro di sè per lungo tempo l'acido fenico, di che restano impregnate le pareti e il pavimento.

A tutto ciò devesi aggiungere infine l'inconveniente di abbisognare un tal processo l'uso di un numero notevole di utensili, come si può vedere dall'elenco degli stromenti prescritti da un'ordinanza municipale nel lavoro citato di Merke, e di costare un prezzo molto elevato (L. 1,25 pel trasporto degli utensili e L. 1,25 per ogni ora di lavoro e per ciascuna persona).

Anche a Berlino, prima del pane, si adoperava il sublimato, giusta i precetti di Guttmann e Merke, e non riesco davvero a comprendere quali sieno le « considerazioni sanitarie non indifferenti » che, giusta una frase del lavoro di Merke, si sono opposte all'uso ulteriore di questa sostanza.

L'obbiezione più grave, basata sul timore di un'azione nociva del sublimato, non avendo ricevuto finora nessuna conferma di fatto, non può bastare, a mio avviso, per proscrivere l'uso di un mezzo, che in tutto il resto corrisponde assai bene alle esigenze scientifiche e pratiche per la disinfezione degli ambienti.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 2.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Torino.

RICERCHE
SOPRA
L'AZIONE FISIOLOGICA DEL MASSAGGIO
SUI MUSCOLI DELL' UOMO

PER IL

Dott. **Arnaldo MAGGIORA**

Prof. incaricato d'Igiene nella R. Università di Torino.

Lucta et fricatio externis corporis partibus magis laborem exhibent, calefaciunt autem carnem et corroborant ac augeri faciunt ob hanc causam.

HIPPOCRATIS, *Opera omnia*, vol. I, p. 236, *De dieta*. (Lugduni, Batav. 1665, apud Gaasbeekjos).

Fin dagli antichi tempi è noto che il massaggio esercita un'azione benefica sulla funzione del sistema muscolare. — I ginnasti greci, gli atleti ed i gladiatori romani allo scopo di aumentare resistenza ed elasticità ai loro muscoli solevano farsi ungere e soffregare energicamente gli arti ed il torace innanzi di cominciare la lotta. La medicina antica impiegava assai il massaggio come mezzo igienico e di cura (1); la me-

(1) Si parla dell'applicazione igienica e terapeutica dei mezzi meccanici nel celebre libro indiano « Susruta » e nel « Cong Fou » dei Chinesi; se ne tratta più ampiamente in Ippocrate, loc. cit. e *De internis affectio- bus; De morbis;* e specialmente in Galeno *De sanitate tuenda* liber II, g. 69 e seg. liber III, pag. 76 e seg. (Venetiis apud Iuntas 1597). ἀποθεραπεία e la παρασκευή che Galeno consigliava ai ginnasti ed agli sti consisteva essenzialmente in una serie di manovre di massaggio ernate. — Vedasi anche Celso, libro II, pag. 58 e III, pag. 108 e seg. Cornelii Celsi, *De medicina libri octo*. Edizione del Daremberg.

dicina nuova lo ha risollevato dalle mani degli empirici, ove in seguito era rimasto per molto tempo dimenticato, e, migliorandone l'applicazione, ha ritrovato in esso, come in altri mezzi fisici e meccanici, un fattore terapeutico di grande importanza (1).

Ma anche la medicina nuova ha pensato a trar profitto dei vantaggi pratici, che in terapia poteva fornire il massaggio, molto prima di studiarne accuratamente l'azione fisiologica; e, mentre oggidì si trovano nei trattati ed in memorie speciali ben specificate la tecnica e le norme dell'applicazione nelle diverse malattie, l'analisi dei fenomeni, che esso produce nell'uomo, è ancora del tutto incompleta.

Allo scopo di portare un contributo allo studio di questi fenomeni, dietro consiglio del Prof. Mosso, ho intrapreso nel suo laboratorio una serie di ricerche sull'azione che il massaggio esercita sui muscoli dell'uomo in diverse condizioni fisiologiche (2).

Per le mie ricerche mi servii dei metodi proposti dal professore Mosso per lo studio del lavoro muscolare e della fatica (3).

Nel 1883 Zabludowski in un lavoro fatto nel Laboratorio del professore Kronecker (4) dimostrò che i muscoli della

Lipsiae in aedibus Teubneri, MDCCCLIX. — Nei classici latini e greci troviamo poi frequentemente riportati fatti i quali ci dimostrano come le pratiche del massaggio fossero di uso comune.

(1) Per la letteratura medica consultare: Schreiber, « A manual of treatment by massage and methodical muscle exercise »; traduzione dal tedesco, Philadelphia 1887; Hünerfaut Handbuch der Massage, Leipzig 1887; Reibmayr, Die Massage und ihre Verwerthung in den verschiedenen Disciplinen der praktischen Medicin, Wien 1887; lo stesso, Die Unterleibs-Massage, Leipsig, 1889.

(2) Su questo lavoro venne pubblicata una comunicazione preventiva col titolo « Contributo allo studio dell'azione fisiologica del massaggio », nel *Giornale della R. Società Italiana d'Igiene*, 1890.

(3) *Atti della R. Accad. dei Lincei*, 1888; *Archiv f. Anat. und Physiol.*, 1890.

(4) « Ueber die physiologische Bedeutung der Massage » (*Centralblatt f. d. med. Wissenschaften*, 1883, pag. 242).

rana affaticati, sotto l'azione del massaggio si ristabiliscono rapidamente e dànno di nuovo contrazioni uguali o poco inferiori a quelle che essi sono capaci di eseguire quando si trovano in condizioni di completo riposo, mentre un breve periodo di riposo è pei medesimi quasi senza effetto. Esperimentando sull'uomo Zabludowski osservò del pari che, dopo un lavoro affaticante, una pausa di 15′ di riposo era del tutto insufficiente a ristorare i muscoli, ma che, se invece si praticava su di essi un buon massaggio per 5′, divenivano nuovamente capaci di lavorare come in condizioni normali.

Zabludowski nella sua esperienza stancava i muscoli flessori dell'antibraccio contraendoli un grande numero di volte col ritmo di 1″, in modo di giungere colla mano sino alla spalla, mentre teneva in mano un peso di due chilogrammi. La stessa persona che sperimentava contava il numero delle contrazioni fatte.

Nel mio lavoro sulle leggi della fatica (1) ho pubblicato alcune esperienze eseguite coll'ergografo del prof. Mosso, le quali, mentre confermano i fatti trovati da Zabludowski, dimostrano che:

1° Nel muscolo indebolito dal digiuno si può col massaggio migliorare notevolmente le condizioni di resistenza al lavoro.

2° Il massaggio può impedire quello accumularsi della fatica nel muscolo che proviene dall'eseguire lavori troppo avvicinati fra di loro, e permette così di ottenere da esso un lavoro meccanico notevolmente maggiore che con equivalenti periodi di riposo. Se ad esempio un muscolo scrive per un certo numero di volte la sua curva della fatica con un dato peso e con periodi di riposo di soli 15′, dopo due, od al più tre, tracciati normali è divenuto incapace di eseguire la normale quantità di lavoro meccanico, e le sue forze vanno progressivamente diminuendo; per contro se sostituiamo ai pe-

---

(1) *Atti della R. Accademia dei Lincei*, Roma, 1888. — *Archiv für Anatomie und Physiol.*, 1890.

riodi di riposo di 15', periodi egualmente lunghi di massaggio, il muscolo può dare per ben 8 volte un tracciato normale della fatica. Se nel primo caso il muscolo produce in capo a due ore una quantità complessiva di lavoro meccanico uguale ad x, nel secondo caso, nel medesimo spazio di tempo, si potrà avere un lavoro meccanico uguale a 4 x od anche più.

Veniamo ora ad esaminare alcuni altri fatti.

A

Azione del massaggio sui muscoli in riposo.

I.

Ho cercato da prima se il massaggio possa aumentare la quantità di lavoro che un muscolo, in condizioni di completo riposo, è capace di produrre contraendosi con un dato peso e ritmo sino a stanchezza.

Esperienza 1.

Il giorno 30 novembre 1890, alle ore 8 ed alle 11 ant., alle 2 ed alle 5 pom. scrivo (1) successivamente il tracciato normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra e di destra col peso di 3 chilogr. ed il ritmo di 2''. Le contrazioni sono massime ed avvengono volontariamente. Il giorno successivo alle medesime ore ripeto i detti tracciati nelle stesse condizioni per rispetto al peso, al ritmo, al modo della contrazione, ma facendo precedere ad ogni curva un periodo di massaggio della durata di 3' consistente in un'alternativa di manovre di *soffregamento*, di *battitura*, di *impastamento* (2). Si ottengono così 16 tracciati dei quali ripro-

---

(1) A. Maggiora, anni 28, peso Kg. 67, statura m. 1,74, sistema muscolare bene sviluppato, pannicolo adiposo scarso.

(2) Tanto in questa come nelle susseguenti esperienze il massaggio veniva fatto sempre colla medesima energia dalla stessa persona, lo studente Carlo Colombo allievo del Laboratorio di fisiologia.

duco solamente il 1° di ciascun giorno, relativo alla mano sinistra fig. 1ª e 2ª; e nella tabella 1ª espongo le cifre che indicano l'altezza complessiva di sollevamento, e la quantità di lavoro meccanico in chilogrammetri ogni volta prodotto dal muscolo.

Fig. 1. Fig. 2.



Fig. 1. — Curva normale volontaria dalla fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″.

Fig. 2. — Curva degli stessi muscoli collo stesso peso e ritmo, sotto l'azione del massaggio per 3′.

TABELLA 1. — Peso 3 Kg. Frequenza della contrazione 2".

Tracciato	Ore	Mano sinistra				Mano destra			
		normale. 30. XI. 90		massaggio. 1. XII		normale 30. XI. 90		massaggio 1. XII	
		Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1 fig. 1	8 ant.	m. 1,424	Kgm. 4,272						
2 » 2	»			m. 2,673	Kgm. 8,019				
3	»					m. 1,387	Kgm. 4,161		
4	»							m. 2,221	Kgm. 6,663
5	11 »	» 1,458	» 4,374						
6	»			» 2,801	» 8,403				
7	»					» 1,323	» 3,969		
8	»							» 2,331	» 6,993
9	2 pom.	» 1,534	» 4,602						
10	»			» 2,793	» 8,379				
11	»					» 1,659	» 4,977		
12	»							» 2,286	» 6,858
13	5 »	» 1,650	» 4,950						
14				» 2,450	» 7,350				
15						» 1,379	» 4,137		
16								» 2,540	» 7,620
	Totale		Kgm. 18,198		Kgm. 32,151		Kgm. 17,244		Kgm. 28,134
	Media		» 4,5495		» 8,0377		» 4,3110		» 7,0335

Dall'esame delle fig. 1 e 2 e dei dati numerici della precedente tabella risulta che mentre i muscoli flessori del dito medio della mano sinistra producono, contraendosi volontariamente, col ritmo di 2″ ed un peso di 3 chilog., in condizioni normali un lavoro meccanico medio di chilogrammetri 4,272, lavorando sotto l'azione di un periodo di massaggio di 3′ producono un effetto utile molto maggiore, cioè di Kgm. 8,019 e che risultati consimili si ottengono per la mano destra. L'aumento del lavoro non è dovuto ad una superiorità nell'altezza delle prime contrazioni, ma ad un maggiore numero di queste ed al loro più lento decrescere. — La forma della curva a causa di tali modificazioni subisce pur essa dei cangiamenti; mentre nella fig. 1ª rassomiglia ad una *S* italica poco accentuata, nella fig. 2ª si avvicina piuttosto ad un arco di parabola. — Quest'ultima variazione però non è costante.

In questa prima esperienza mi sono servito di un peso costante di 3 chilogr., vediamo se l'azione benefica del massaggio si manifesta egualmente quando s'impiegano dei pesi più o meno grandi:

Esperienza 2.

Il giorno 2 dicembre 1890 scrissi alle ore 9 ant. la curva della fatica dei flessori del dito medio di sinistra e di destra col peso di 2 Kg. ed il ritmo di 2″; contrazioni volontarie; alle 1 pom. dello stesso giorno ripetei la stessa osservazione col peso di 4 Kg., ed alle 5 pom. col peso di 6 Kg.

Il giorno 3 dello stesso mese scrissi nuovamente il tracciato della fatica degli stessi muscoli alle medesime ore cogli stessi pesi e facendo precedere ogni volta l'azione del massaggio per un periodo di 3′. Ottenni in tutto 12 tracciati che per brevità ometto ed espongo nella tabella 2ª i dati numerici dell'esperienza.

Tabella 2.

Frequenza delle contrazioni 2″.

Tracciato	Ore	Peso	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
			I° giorno. 2. XII. 90. Condizioni normali			
1	9 ant.	2 Kg.	m. 4,188	Kgm. 8,376		
2	»	»			m. 4,256	Kgm. 8,512
3	1 pom.	4 »	» 1,743	» 6,972		
4	»	»			» 1,615	» 6,460
5	5 pom.	6 »	» 0,501	» 3,006		
6	»	»			» 0,668	» 4,008
			2° giorno. 3. XII. 90. Massaggio per 3′.			
7	9 ant.	2 Kg.	m. 5,008	Kgm. 10,016		
8	»	»			m. 5,273	Kgm. 10,546
9	1 pom.	4 »	» 2,238	» 8,952		
10	»	»			» 2,074	» 8,296
11	5 pom.	6 »	» 0,901	» 5,406		
12	»	»			» 1,181	» 7,086

Ricavando la proporzione che esiste fra il lavoro fatto dai muscoli che lavorano in condizioni normali (A) e quello dei muscoli che si contraggono sotto l'azione del massaggio (B) noi troviamo che

per un peso di 2 Kg. A : B :: 1 : 1,217
» » » 4 » A : B :: 1 : 1,118
» » » 6 » A : B :: 1 : 1,795.

Appare da questi dati che i muscoli flessori del dito medio, che si contraggono volontariamente sotto l'azione del massaggio pel periodo di 3′, presentano un notevole aumento nella quantità di lavoro meccanico che essi sono capaci di produrre in condizioni normali, sia che i medesimi siano caricati con un peso di 2 chilogr., sia che ne sollevino uno di 4 o di 6 chilogr.; e che coi pesi molto forti (6 chilogr.) l'effetto benefico può essere anche maggiore che non con pesi piccoli e medii.

Riconosciuti questi fatti nei muscoli che lavorano volontariamente, era importante determinare se essi si verificassero eziandio quando i muscoli si contraggono per eccitazione elettrica dei loro nervi, o portata direttamente sui muscoli stessi. A tale scopo ho fatto le esperienze 3ª e 4ª.

Esperienza 3.

Il 7 dicembre 1890 alle ore 8 ant. scrivo il tracciato normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra col peso di 2 Kgm., eccitando col ritmo di 2″ il nervo mediano per via elettrica a mezzo di una serie di scosse di induzione provenienti da una slitta di Du Bois Reymond, della quale il circuito primitivo era animato da 4 elementi Bunsen. Ogni eccitamento durava $^{30}/_{100}$ di secondo e contava 16 interruzioni; unità eccitanti 1000 (1).

Due ore dopo scrivo nuovamente il tracciato dei medesimi muscoli collo stesso peso, ritmo, ed eccitamento, ma facendo precedere l'azione del massaggio sull'antibraccio pel periodo di 3′.

---

(1) Il meccanismo che determinava l'apertura e la chiusura del circuito primitivo e la durata dell'eccitamento era costituito da un grosso pendolo in ferro dell'altezza di circa m. 4 costrutto nel laboratorio del Prof. Mosso. In tale apparecchio la lunghezza delle oscillazioni è resa costante mediante un congegno speciale e la loro frequenza si può variare a seconda dei bisogni.

Un'asticciuola metallica, fissata perpendicolarmente sull'asse del pendolo, isolata da questo e comunicante col circuito primitivo, sfrega durante una parte della oscillazione contro una superficie metallica di forma triangolare ed a scala, calcolata ne' suoi diversi punti, la quale per mezzo di una vite si può fissare ad altezza differente, aumentando così, o diminuendo la superficie del contatto e la sua durata. Questa superficie metallica triangolare comunica a sua volta col circuito primitivo, di guisa che, quando avviene il contatto fra essa e l'asticciuola dell'asse, ha luogo la chiusura.

Gli elettrodi che portavano al nervo l'eccitazione della corrente indotta erano formati da due piastrine metalliche del diametro di 4 cm. aderenti ai serrafili, rivestite da una fine spugnetta e da uno strato di cotone idrofilo ricoperto di pelle da guanto scamosciata. Essi erano applicati, mediante bendarelle elastiche graduate, l'uno all'angolo inferiore della parete esterna o scapolo-omerale dell'ascella, l'altro alla faccia interna del braccio, sul decorso del mediano, circa 8 cm. al di sopra del piego del gomito. Affinchè l'applicazione venisse sempre fatta al medesimo punto, avevo segnato col nitrato d'argento sulla pelle delle braccia il luogo della applicazione.

Alle 12,30 altro tracciato normale col peso di 3 Kg. ed eccitamento elettrico del nervo della medesima durata e frequenza, ma dell'intensità di unità eccitanti 1250 (fig. 3ª), alle 2,45 pom. ripeto il medesimo tracciato nelle stesse condizioni per rispetto al peso, al ritmo, alla intensità e durata dell'eccitamento, ma applicando in precedenza il massaggio per un periodo di 3′ (fig. 4ª).

Finalmente alle 5 ed alle 7,15 pom. scrivo il tracciato normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio, da prima in condizioni ordinarie, poscia sotto l'azione del massaggio per 3′, e servendomi di un peso di 4 Kg., e d'un eccitamento della stessa durata, e del medesimo numero di interruzioni dei precedenti, ma dell'intensità di unità eccitanti 1375.

I risultati ottenuti sono riassunti nella tabella 3ª.

FIG. 3. FIG. 4.

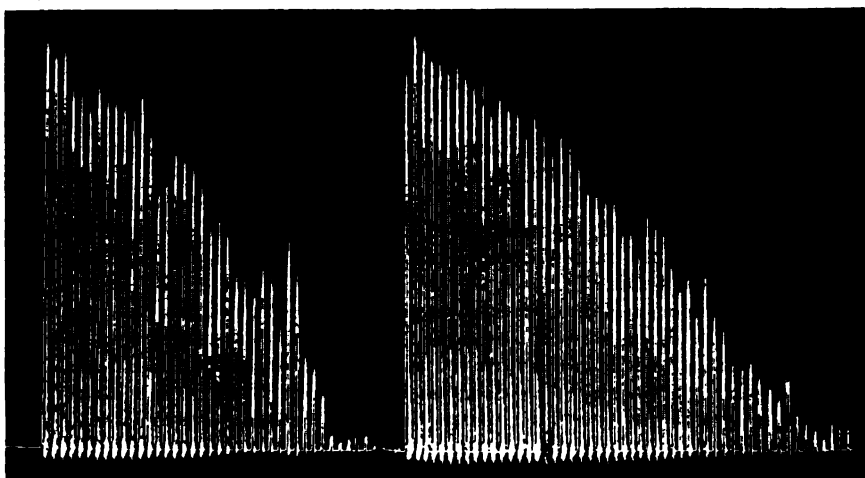


Fig. 3. — Tracc. 3° dell'Esp. 3ª. Curva normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra, col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″. Irritazione del nervo mediano.

Fig. 4. — Tracc. 4° dell'Esp. 3ª. Curva della fatica degli stessi muscoli col medesimo peso e ritmo; sotto l'influenza del massaggio per 3′. Irritazione elettrica del mediano come alla fig. 3.

Tabella 3.

Mano sinistra. Ritmo 2″.

Tracciato	Ore	Peso	Intensità dello eccitamento	Normale		Massaggio per 3′	
				Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
				m.	Kgm.	m.	Kgm.
1	8 ant.	2 Kg.	1000	1,690	3,380		
2	10,15 »	»	»			2,200	4,400
3 fig. 3ª	12,30 m.	3 »	1250	1,164	3,492		
4 fig. 4ª	2,45 p.	»	»			1,560	4,680
5	5 »	4 »	1375	0,922	3,688		
6	7,15 »	»	»			1,245	4,980

Vediamo pertanto che anche quando i muscoli flessori del dito medio si contraggono per eccitazione elettrica dei loro nervi, l'azione benefica del massaggio nell'aumentare la resistenza dei muscoli stessi al lavoro, si mostra evidente sia che trattisi di un peso di 2, o di 3, o di 4 chilogrammi.

Anche in questo caso l'aumento non va dovuto ad una maggiore altezza delle prime contrazioni, ma al maggior numero ed al più lento loro decrescere. Ripetei questa esperienza impiegando dei pesi più piccoli ed ottenni analogo risultamento.

Esperienza 4.

Irritazione diretta dei muscoli (1).

Il 9 dicembre 1890 alle 8 ant. scrivo il tracciato normale della fatica del muscolo flessore del dito medio di destra, col peso di

(1) Nello studiare gli effetti del massaggio sul lavoro dei muscoli che si contraggono per irritazione elettrica diretta, si deve avere l'avvertenza di impiegare correnti molto meno forti e conseguentemente pesi più piccoli di quelli che si usano quando si vuole sperimentare senza il massaggio; e ciò per la ragione che il massaggio, aumentando notevolmente la sensibilità al dolore della cute, rende affatto insopportabili delle correnti che in condizioni normali sono perfettamente tollerate.

grammi 750, il ritmo di 2″. L'eccitamento dell'intensità di 850 unità, della durata di $^{30}/_{100}$ di 1″, conta ogni volta 14 interruzioni. Esso arriva ai muscoli per mezzo di due elettrodi, uno dei quali, del diametro di 5 cm. è applicato sulla faccia anteriore dell'antibraccio, verso l'inserzione fissa dei flessori, circa 4 cm. al di sopra della piega del gomito, l'altro del diametro di 2 cm. è fissato alquanto più in basso sul decorso dei flessori stessi. Alle 10,15′ ant. si ripete la medesima osservazione, facendo precedere immediatamente l'azione del massaggio misto per 5′. Alle 12,30′ ed alle 2,45′ si fanno due altre osservazioni analoghe alle precedenti, una cioè in condizioni ordinarie, l'altra col massaggio, impiegando un peso di 1 Kg., ed un eccitamento = 1050.

Più tardi alle 5 ed alle 7,15′ si scrivono ancora due altri tracciati, uno normale, l'altro col massaggio, mentre i muscoli sollevano un peso di gr. 1500. Si hanno così 6 tracciati i quali per brevità ometto, e riporto nella tabella 4ª le cifre che esprimono l'altezza di sollevamento ed il lavoro meccanico ciascuna volta eseguito.

Tabella 4.

Mano destra. Ritmo 2″.

Tracciato	Ore	Peso	Intensità dello eccitamento	Normale		Massaggio per 5′	
				Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
		gr.	U. E.	m.	Kgm.	m.	Kgm.
1	8 ant.	750	850	1,189	0,88175		
2	10,15 »	»				1,638	1,2285
3	12,30 m.	1000	1050	0,922	0,922		
4	2,45 p.	»				1,174	1,174
5	5 »	1500	1250	0,602	0,902		
6	7,15 »	»				0,932	1,898

Appare da questi dati che anche pei muscoli eccitati direttamente a mezzo delle correnti elettriche, il massaggio è capace di aumentare notevolmente la quantità del lavoro meccanico che essi, in condizione di completo riposo, possono eseguire innanzi di stancarsi.

Anche in questo caso al pari di quanto si è veduto nelle precedenti esperienze la maggiore quantità dell'effetto utile non è dovuto ad un aumento iniziale nell'altezza delle prime contrazioni, ma ad un aumento nella resistenza del muscolo, che si manifesta con un numero maggiore di contrazioni ed un più lento decrescere delle medesime.

II.

In questo 2° capitolo ho ricercato se l'effetto benefico del massaggio cresca proporzionatamente alla sua durata.

Esperienza 5.

Il giorno 10 dicembre 1890 alle ore 8 ant. ho scritto il tracciato normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra, che si contraevano per effetto della volontà, sollevando un peso di 3 Kg. colla frequenza di contrazione di 2″; e subito dopo il tracciato dei muscoli di destra in identiche condizioni.

Successivamente alle 10,15′, alle 12,30′, alle 2,45′ ed alle 5 scrissi il tracciato degli stessi muscoli, col medesimo peso e ritmo, ma facendo agire sopra di essi manovre miste di massaggio, per la durata dapprima di 2′, poi di 5′, quindi di 10′, e per ultimo di 15′. Ebbi così dieci tracciati, dei quali per brevità riproduco solamente il 3° (fig. 5) ed il 5° (fig. 6), che mostrano l'effetto del massaggio, applicato sui muscoli del lato sinistro, rispettivamente per 2′ e per 5′.

Per riconoscere in modo più evidente tale effetto sarà bene confrontare dette figure con la fig. 1, la quale rappresenta il corso normale della fatica degli stessi muscoli nella medesima persona. Nella tabella 5 espongo le quantità calcolate del lavoro meccanico prodotte ciascuna volta.

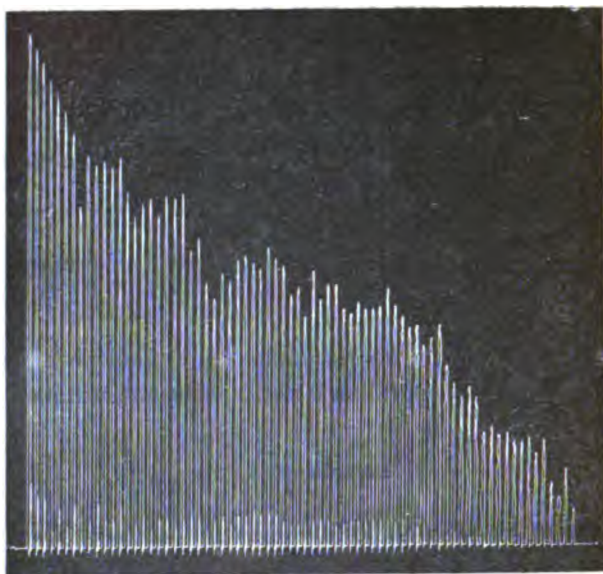


Fig. 5. — Tracc. 3° dell'Esper. 5ª. Curva volontaria della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″. Azione del massaggio per 2′.

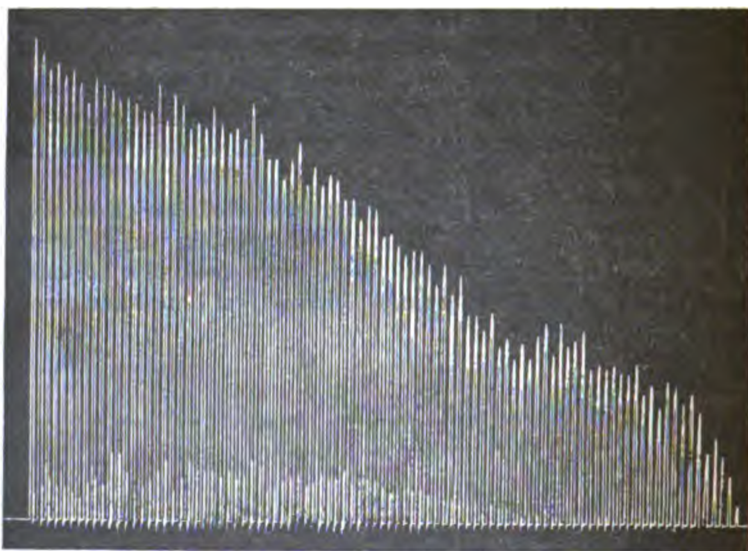


Fig. 6. — Tracc. 5°. Curva volontaria degli stessi muscoli col medesimo peso e ritmo. Azione del massaggio per 5′.

Tabella 5.

Peso 3 Kg. Ritmo 2''.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
			m.	Kgm.	m.	Kgm.
1	8 ant.	normali	2,075	6,225		
2	»	id.			2,099	6,297
3 fig. 5ª	10,15 »	massaggio per 2'	2,595	7,785		
4	»	id. id.			2,610	7,830
5 fig. 6ª	12,30 p.	id. 5'	3,576	10,728		
6	»	id. id.			3,450	10,350
7	2,45 »	id. 10'	3,227	9,681		
8	»	id. id.			3,523	10,569
9	5 »	id. 15'	3,420	10,260		
10	»	id. id.			3,490	10,470

Dall'esame di queste figure, e dai dati numerici esposti nella tabella 5 appare che già per un massaggio della durata di 2' si ha un sensibile aumento nella quantità di lavoro meccanico prodotta dai muscoli; che, protraendo a 5' la durata del massaggio, l'effetto utile aumenta molto notevolmente; ed anzi che si ha già per mezzo di esso quasi tutto l'effetto utile che col massaggio si può ottenere. Nel caso speciale, prolungando a 10' la durata del massaggio, si ebbe per la mano sinistra, anzichè un aumento, una leggiera diminuzione; per la mano destra invece, un aumento di soli Kgm. 0,216. Protraendo poi a 15' l'azione del massaggio, si ebbe ancora per la mano sinistra un debolissimo aumento sopra la cifra del lavoro meccanico ottenuto con un massaggio di 10', senza tuttavia raggiungere la quantità di lavoro data dai muscoli con un periodo di 5' di massaggio.

In altre esperienze analoghe a questa, rimanendo costante rapporto della quantità di lavoro meccanico ottenuta sotto azione di un periodo di 2' di massaggio, e di un periodo di , si notava un aumento molto leggiero, ma progressivo in utt'e due le mani, fra 5', 10' e 15'.

A bella posta ho voluto riportare questa fra le molte esperienze da me fatte, per dare un' idea delle oscillazioni che nei limiti di medesime condizioni fisiologiche possono verificarsi nella resistenza dei muscoli al lavoro, e negli effetti del massaggio.

Per accertare se esistano differenze nel modo dell'azione, allorquando i muscoli si contraggono per eccitazione elettrica dei loro nervi, od applicata direttamente sopra di essi, ho fatto le seguenti esperienze.

Esperienza 6.

Applicati gli elettrodi sul nervo mediano sinistro nel modo indicato nella 3ª esperienza, alle ore 8 ant. del giorno 13 dicembre 1890, descrissi la curva normale della stanchezza dei muscoli flessori del dito medio. Con intervalli di due ore scrissi successivamente il tracciato della fatica dei medesimi muscoli, facendo precedere ad ogni osservazione un periodo di massaggio misto, dapprima di 2′, poi di 5′, in seguito di 10′ e finalmente di 15′. L'eccitamento aveva l'intensità di unità 1400, durava come al solito $^{30}/_{100}$ di 1″, con 14 interruzioni; ritmo = 2″. Ommetto i 6 tracciati ottenuti e mi limito alla pubblicazione dei dati numerici nella tabella 6.

Tabella 6.

Mano sinistra. Peso 3 Kg. Ritmo 2″.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1	8 ant.	normale	m. 1,328	Kgm. 3,384
2	10,15 »	massaggio per 2′	» 1,562	» 4,686
3	12,30 »	» » 5′	» 1,821	» 5,463
4	2,45 p.	» » 10′	» 1,957	» 5,871
5	5 »	» » 15′	» 1,997	» 5,991

Anche pei muscoli che si contraggono per eccitamento elettrico dei loro nervi, appare da questi dati che l'aumento nella produzione del lavoro meccanico, già molto sensibile per un

periodo di massaggio di 2', raggiunge pressochè tutto il suo effetto colla durata di 5', e che prolungando ulteriormente sino a 15' l'azione del massaggio non si ha più un vantaggio apprezzabile.

Esperienza 7.

In questa esperienza del tutto simile alla precedente vennero irritati direttamente i muscoli nel modo indicato alla esperienza 4ª. L'intensità dell'eccitamento era di unità 1000. La tabella seguente meglio che qualsiasi descrizione esprime i risultati ottenuti; i tracciati vengono omessi per brevità.

Tabella 7.

Peso Kg. 1. Ritmo 2''. Mano destra.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1	8 ant.	normali	m. 0,671	Kgm. 0,671
2	10,15 »	massaggio per 2'	» 0,803	» 0,803
3	12,30 »	» » 5'	» 0,959	» 0,959
4	2,45 »	» » 10'	» 0,907	» 0,907
5	5 »	» » 15'	» 0,980	» 0,980

Risulta che anche pei muscoli irritati direttamente colla corrente elettrica l'effetto utile del massaggio entro certi limiti è proporzionale alla durata del medesimo, e che, oltrepassati quelli, anche prolungando tale manovra non si ottiene un sensibile aumento nella produzione del lavoro meccanico.

in genere si può dire che in qualunque condizione lavori nuscolo, con un periodo di massaggio della durata di 5' a si ottiene tutto l'effetto utile che dal medesimo si può rre, dal punto di vista della produzione del lavoro mec-ico.

III.

Azione delle principali manovre di massaggio.

Ho ricercato se le diverse manovre di massaggio agiscono con efficacia differente sull'attitudine del muscolo a lavorare. Le principali di queste manovre, come è noto, sono tre: cioè il *soffregamento*, la *battitura* fatta sia colla parte palmare delle dita col margine esterno della mano, sia con questa serrata a pugno, e l'*impastamento*.

Esperienza 8.

Il giorno 30 novembre 1890 alle ore 8 ant. scrivo il tracciato della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra e di destra, col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″. Le contrazioni avvengono volontariamente. In seguito, durante tutto il giorno, ripeto ogni due ore il medesimo tracciato, facendo precedere ogni volta, dapprima la manovra di soffregamento sui muscoli dell'antibraccio per 5′, poi la battitura pel medesimo periodo di tempo, quindi l'impastamento e per ultimo un'alternativa delle tre manovre, cioè un periodo di 5′ di massaggio misto.

Si ottengono così 10 tracciati che per brevità ometto; mi limito ad esporre le cifre che esprimono la quantità del lavoro meccanico ogni volta eseguito dal muscolo.

Tabella 8. — Peso 3 Kg. Ritmo 2″.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
			m.	Kgm.	m.	Kgm.
1	7,30 ant	normali	1,558	4,674		
2	»	»			1,588	4,764
3	9,45 »	battitura 5′	1,906	5,718		
4	»	»			1,940	5,820
5	12 m.	soffregamento 5′	2,378	7,134		
6	»	»			2,210	6,630
7	2,15 p.	impastamento 5′	2,724	8,172		
8	»	»			2,607	7,821
9	5,50 »	massaggio misto 5′	2,943	8,829		
10	»	»			2,709	8,127

Appare da questi dati che mentre esiste poca differenza nella quantità del lavoro prodotto in seguito al soffregamento od alla battitura, si ha invece un aumento molto sensibile per l'azione dello impastamento, e che i risultati migliori si ottengono collo alternarsi delle 3 manovre, e cioè col massaggio misto. Ho ripetuto parecchie volte questa esperienza con analoghi risultamenti.

Onde evitare il dubbio che nell'apprezzamento di tale fenomeno esistesse, nelle esperienze fatte colla volontà, qualche causa di errore, ho ricercato se contraendosi i muscoli per irritazione elettrica dei loro nervi, od applicata direttamente sopra di essi, si riscontrava ancora la medesima differenza nel modo dell'azione.

Esperienza 9.

Irritazione dei nervi.

Questa esperienza è fatta in condizioni simili alla precedente, ma solamente sulla mano sinistra: il peso è di 3 Kg., il ritmo di 2″, gli eccitamenti applicati sul nervo mediano nel modo di sopra indicato hanno l'intensità di 1450 U. E., ciascuno dura $^{30}/_{100}$ di 1″ e conta 14 interruzioni. — Omettendo i tracciati, si espongono nella seguente tabella le quantità misurate di lavoro meccanico ciascuna volta eseguito dai muscoli.

Tabella 9.

Mano sinistra. P = 3 Kg. Ritmo 2″.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1	8 ant.	normale	m. 2,003	Kgm. 6,009
2	10,15 »	battitura per 3′	» 2,337	» 7,011
3	12,30 »	soffregamento 3′	» 2,450	» 7,350
4	3 p.	impastamento 3′	» 2,690	» 8,070
5	5,30 »	mass. misto 3′	» 2,580	» 7,740

Anche pei muscoli irritati sui loro nervi si vede che le diverse manovre di massaggio presentano qualche differenza nell'intensità dell'azione, e che la maggiore quantità di lavoro meccanico si ottiene coll'impastamento e col massaggio misto.

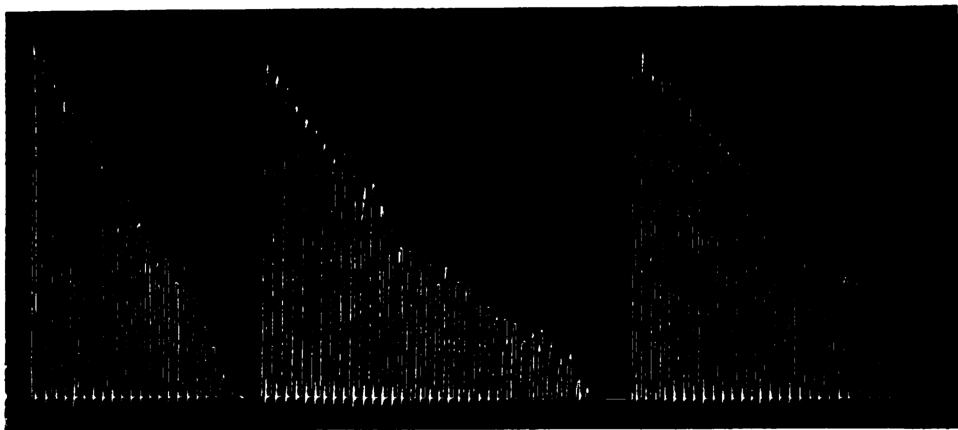
Esperienza 10.

Irritazione dei muscoli.

È analoga alla 9ª, i muscoli sono irritati direttamente nel modo indicato all'esperienza 4ª, con un eccitamento dell'intensità di 1000 unità, della durata di $^{30}/_{100}$ di 1″, e contante 14 interruzioni. Il peso è di grm. 1000.

Dei 5 tracciati ottenuti, mi limito a riprodurre tre; il primo normale (fig. 7), il 2° che indica l'azione della battitura per 5′ (fig. 8), il 5° (fig. 9) che indica l'azione del massaggio misto. Nella tabella 5 riassumo i dati numerici dell'esperienza.

Fig. 7. Fig. 8. Fig. 9.



Irritazione diretta dei muscoli.

Fig. 7. Curva normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio di destra col peso di 1 Kg. ed il ritmo di 2″.

Fig. 8. Curva della fatica degli stessi muscoli col medesimo peso e ritmo e sotto l'azione di 5′ di battitura.

Fig. 9. — Curva id. id. sotto l'azione di 5′ massaggio misto.

Tabella 10.

Peso gr. 1000. Ritmo 2″. Mano destra.

Tracciato	Ore		Condizioni del lavoro		Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1 fig. 7ª	8	ant.	normale		m. 0,548	Kgm. 0,548
2 fig. 8ª	11	»	battitura	5′	» 0,717	» 0,717
3	2	p.	soffregamento	5′	» 0,767	» 0,767
4	5	»	impastamento	5′	» 0,790	» 0,790
5 fig. 9ª	8	»	mass. misto	5′	» 0,809	» 0,809

Anche pei muscoli irritati direttamente dalla corrente elettrica, l'azione delle varie manovre di massaggio si manifesta con diversa intensità. I migliori risultati si ottengono col massaggio misto e coll'impastamento. Vengono in seguito con poca differenza dell'azione il soffregamento e la battitura. Ricercando la ragione di questo fatto, si riconosce come esso debba essenzialmente attribuirsi alla maggiore intensità e regolarità colla quale l'impastamento ed il massaggio misto agiscono sulla circolazione nelle diverse parti dei muscoli, mentrechè il soffregamento e la battitura da soli non riescono di solito a spiegare la loro azione in modo così omogeneo ed efficace sopra le parti profonde dei muscoli.

B

AZIONE DEL MASSAGGIO SUI MUSCOLI INDEBOLITI PER DIVERSE CAUSE.

IV.

Digiuno, fatica e massaggio.

Nel mio lavoro sulle leggi della fatica ho dimostrato che si può, a mezzo del massaggio, migliorare notevolmente nel muscolo indebolito dal digiuno le condizioni di resistenza al

lavoro. Quelle mie osservazioni erano state fatte sopra il muscolo che lavora volontariamente, e quando esso si contrae per la eccitazione elettrica del suo nervo. Ho ricercato ora se anche nei muscoli, i quali si contraggono per irritazione elettrica applicata sopra di essi direttamente, si riscontrano i medesimi fatti.

Esperienza 11.

Il giorno 16 novembre 1890 ommetto il pasto delle ore 11 e resto digiuno fino alle 7 $^1/_2$ di sera, in tutto 25 ore. Alle 8 antimeridiane, alle 11,15′, alle 12,30′ scrivo il tracciato della fatica dei muscoli flessori del medio di sinistra, col peso di grm. 1000, il ritmo di 2″ ed un eccitamento dell'intensità di 1050 unità. Durata dell'eccitamento $^{30}/_{100}$ di 1″. Questi tre tracciati sono normali. Alle ore 3 ed alle 6 pomeridiane scrivo nuovamente il tracciato della fatica degli stessi muscoli, ed ottengo i tracciati 4 e 5, i quali mostrano essere avvenuto per effetto del digiuno un notevole indebolimento ne' miei muscoli. Alle ore 6,30′, cioè appena mezz'ora dopo terminato il tracciato 5°, scrivo ancora la curva della fatica dei medesimi muscoli, facendo immediatamente precedere un periodo di massaggio di 5′.

Ommetto per brevità questi tracciati, ed espongo nella tabella 11 le cifre del lavoro meccanico prodotto.

Tabella 11.

Mano sinistra. Peso gr. 1000 frequenza delle contrazioni 2″
Eccitamento = 1050.

Tracciato	Ore	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Osservazioni
1	7,30 ant.	m. 0,639	Kgm. 0,639	Condizioni norm.
2	10 »	» 0,596	» 0,596	Id. Id.
3	12,15 m.	» 0,617	» 0,617	Cond. ancora norm.
4	4 p.	» 0,285	» 0,285	Si vede l'effetto
5	6,15 »	» 0,230	» 0,230	del digiuno
6	7,30 »	» 0,675	» 0,675	mass. misto per 5′

Questa esperienza ci prova che anche pei muscoli flessori del dito medio, che si contraggono per eccitazione elettrica applicata direttamente sopra di essi, per effetto del digiuno resta notevolmente diminuita la resistenza al lavoro, e che è possibile apportarvi per mezzo del massaggio un ristoro temporaneo, ma efficace al punto da ottenere dai medesimi un tracciato della fatica simile a quello che essi dànno in condizioni normali.

V.

Azione del massaggio sui muscoli stancati per via indiretta.

Nel mio lavoro sulla fatica (1) ho illustrato con una serie di esperienze il fatto, sul quale aveva già insistito Roberto Mayer (2), che « la stanchezza, quando non è prodotta da un eccesso momentaneo del lavoro, si diffonde uniformemente sull'intiero sistema dei muscoli;.... e che, dopo una marcia faticosa, le braccia sono, come le gambe, meno disposte ad un ulteriore lavoro ». Con altre esperienze ho voluto ricercare se la stanchezza delle braccia, ottenuta a questo modo per via indiretta, e per una causa che agisce su tutti i muscoli, restava influenzata dal massaggio. Riporto una delle esperienze da me fatte:

Esperienza 12.

Il giorno 5 settembre 1890 alle ore 9 ed alle 11,15 antim. scrivo il tracciato normale della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra, e poi di destra, col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″. Contrazioni volontarie massime.

Alle ore 11,15 faccio colazione, e poi, in compagnia del mio amico Dr. Grandis vado a piedi sino a Soperga, la quale, seguendo la strada da me percorsa, dista dalla cinta daziaria di Torino circa 7 Klm. con un dislivello di oltre 400 m. negli ultimi 3 Klm. Colà giunto mi riposo un quarto d'ora e bevo mezzo litro di birra, quindi

(1) Loc. cit.

(2) « Die Organische Bewegung in ihrem Zusammenhange mit dem Stoffwechsel », pag. 110.

ritorno indietro, arrivando in laboratorio alle ore 5,45′, dopo aver così percorsi a piedi circa 17 Klm., dei quali parte in salita. Appena in laboratorio scrivo il tracciato della fatica degli stessi muscoli, e mezz'ora dopo ripeto i medesimi tracciati, sempre col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″, ma facendovi precedere un periodo di buon massaggio misto, della durata di 10′. Ottengo a questo modo 8 tracciati della fatica, dei quali per brevità riproduco solamente il 2° (fig. 10), il 6° (fig. 11) e l'8° (fig. 12), relativi alla mano destra, che indicano successivamente il corso normale della fatica dei flessori del dito medio in condizioni di completo riposo, la stanchezza indiretta avvenuta in questi muscoli a causa della marcia di 17 Klm., e l'effetto che sopra di essi indeboliti spiega il massaggio. Nella tabella 12 sono poi esposti tutti i dati numerici della esperienza.

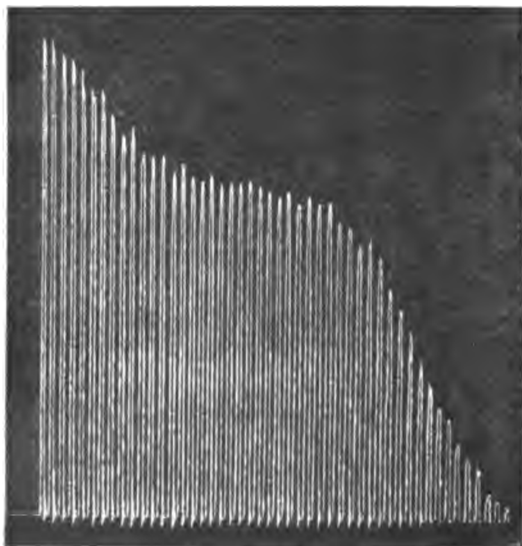


Fig. 10. — Tracciato 2 dell'Esperienza 12. Curva normale volontaria della fatica dei flessori del medio di destra. Peso 3 chilogr. Ritmo 2″.

Fig. 11. Fig. 12.

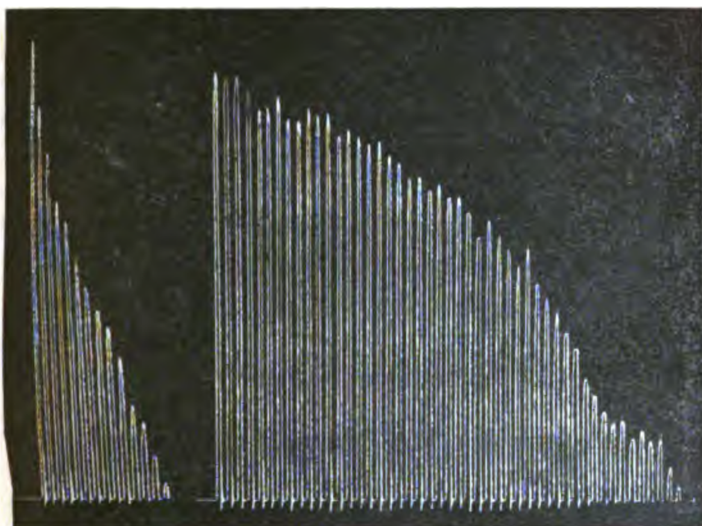


Fig. 11. Tracciato 6. Esp. 12. Curva degli stessi muscoli dopo una marcia di 17 chilometri.

Fig. 12. Influenza del massaggio per 10' sui muscoli indeboliti per via indiretta per mezzo della marcia.

Tabella 12. — Peso 3 Kg. Ritmo 2''.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
			m.	Kgm.	m.	Kgm.
1	9 ant.	normali	1,680	5,040		
2 fig. 10	»	»			1,798	5,394
3	11,15 »	»	1,435	4,305		
4	»	»			1,846	5,538
5	5,45 p.	passeggiata 17 Km.	0,454	1,362		
6 fig. 11	»	»			0,399	1,197
-	6,15 »	massaggio per 10'	1,571	4,713		
fig. 12	»	»			1,720	5,160

Dall'esame delle figure 10, 11, 12 e delle cifre, che indicano lavoro prodotto dai muscoli, si riconosce che il massaggio

può in modo temporaneo far cessare la stanchezza indiretta dei muscoli flessori delle dita della mano che è conseguenza di una marcia lunga ed affaticante (1). L'azione del massaggio nell'esperienza sopracitata si dimostra tanto più evidente pel fatto che fra il penultimo e l'ultimo tracciato scritto dai muscoli di ciascun lato, non intercede il periodo di riposo, che è necessario ad un muscolo in condizioni normali per riposarsi da un lavoro fatto, e poter continuare, quando nessun'altra causa nociva entri in campo, a dare durante tutto il giorno tracciati normali della fatica. Questo periodo di riposo, come hanno dimostrato le mie ricerche varia entro limiti ristretti, e si può in generale calcolare di due ore.

VI.

Azione del massaggio sui muscoli indeboliti dalla veglia.

È noto che allorquando non si dorme un numero sufficiente di ore, i nostri muscoli perdono notevolmente della loro resistenza al lavoro. Intorno a questo fatto che tutti abbiamo occasione di riconoscere su noi medesimi, ho eseguito una serie di osservazioni col metodo grafico (2). La debolezza dei muscoli prodotta dalla veglia ha, come quella causata dal digiuno, qualche cosa di caratteristico; a quella guisa che l'indebolimento conseguente al digiuno non riesce modificato, per quanto di riposo si lasci ai muscoli, così la minore resistenza alla fatica, dovuto alla veglia, non rimane in modo apprezzabile, modificata dal cibo.

Ho ricercato colla seguente esperienza, se la resistenza del muscolo esaurito dalla veglia resti modificata dal massaggio.

---

(1) Il concetto di *lungo ed affaticante* per una marcia di 17 chilom., si riferisce puramente a me, che in quell'epoca da molti giorni non facevo lunghe passeggiate e per ciò risentivo maggiormente la stanchezza delle marcie. Come dimostrai nel mio lavoro sulla fatica, vi sono molte persone, la maggior parte dei nostri soldati di fanteria, ad es., che non presentano per una marcia siffatta sintomi, riconoscibili all'ergografo, di diffusione della stanchezza a tutto il sistema muscolare.

(2) Maggiora, Loc. cit.

Esperienza 18.

La notte dal 12 al 13 marzo 1890, essendo gravemente ammalato di polmonite un mio amico carissimo, lo dovetti vegliare; non ostante la gravità del morbo la notte fu abbastanza tranquilla, onde io potei rimanere quasi sempre seduto su di un seggiolone nella camera attigua a quella dell'ammalato. Non presi mai sonno, e, tranne le 5 o 6 volte che mi alzai per vedere l'ammalato, passai il tempo leggendo un libro ameno.

Verso le 2, sentendomi appetito, mangiai alcun poco di carne arrosto e bevetti del vino. Alle 7 ant., lasciata la casa dell'infermo, andai a prendere una tazza di caffè col tuorlo d'ovo e quindi venni in gabinetto, ove scrissi la curva della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra e di destra (Tr. 1 e Tr. 2). Dopo due ore scrissi nuovamente il tracciato della fatica degli stessi muscoli, facendo prima agire sopra di essi un buon massaggio misto per 10′. Dopo altre quattro ore, durante le quali feci anche cola-

Fig. 13. Fig. 14.

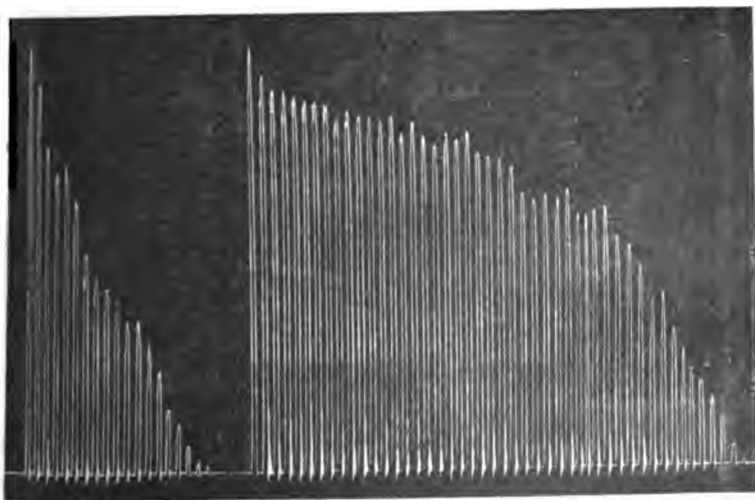


Fig. 13. — Tracciato 2. Esper. 13. Modificazione presentata dalla curva della fatica dei muscoli flessori del dito medio di destra per la veglia di una notte; si confronti col tracciato normale fig. 10.

Fig. 14. — Tracciato 4. Esper. 13. Azione ristoratrice del massaggio per 10′ sui muscoli indeboliti dalla veglia.

zione, scrissi ancora altri due tracciati degli stessi muscoli, senza massaggio (Tr. 5 e Tr. 6).

Coricatomi poi alle ore 6 di sera dormii quasi senza interruzione sino alle 8 e 30′ del giorno successivo; ed in questo ultimo giorno, scrissi una volta al mattino, e l'altra alla sera, la curva della fatica dei muscoli flessori, i quali si mostrarono ritornati in condizioni del tutto normali.

Per brevità non riproduco che i Tr. 2 e 4, fig. 13 e 14; pel confronto con un tracciato normale della stessa mano si veda la fig. 10. — Nella tabella 13 sono esposte le cifre del lavoro meccanico

Tabella 13.

Peso 3 Kg. Ritmo 1″.

Tracciato	Giorno ed ore	Condizioni del lavoro	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
	13. 3. 1890		m.	Kgm.	m.	Kgm.
1	7,15 a	effetto della veglia	0,565	1,695		
2 fig. 13	»				0,475	1,425
3	10 p.	effetto del massaggio per 10′	1,969	5,907		
4 fig. 14					1,732	5,196
5	5	effetto della veglia	0,465	1,395		
6	6				0,403	1,209
	14. 3. 90					
7	10 ant.	normale	1,780	5,340		
8	»	»			1,793	5,370

Le figure ed i dati numerici sopra esposti, meglio che qualsiasi descrizione, esprimono come il massaggio possa far cessare temporaneamente, ma in modo completo, l'indebolimento che per effetto della veglia è avvenuto nei muscoli flessori della mano. Vediamo così che questo mezzo meccanico, per gli effetti che produce nelle condizioni intime della circolazione dei muscoli, e conseguentemente nella attitudine di questi a produrre del lavoro meccanico, si dimostra capace di fare quanto non si ottiene per mezzo del cibo e di alcuni nervini di uso più comune.

VII.

Azione del massaggio sui muscoli indeboliti dal lavoro psichico.

È noto come in molte persone il lavoro psichico intenso produce una notevole stanchezza generale, la quale si diffonde eziandio su tutto il sistema muscolare. Su questo fatto, che per altre persone avviene in grado molto minore, ha insistito il prof. Angelo Mosso nel lavoro sopracitato e nel suo libro sulla fatica (1), dove si trovano eziandio pubblicate alcune esperienze da me eseguite per conto di lui.

Io appartengo appunto al 1° gruppo di persone; il lavoro psichico, che di solito io faccio, essendo da me calcolato in guisa di non oltrepassare il limite delle mie forze, non modifica l'attitudine e la resistenza al lavoro de'miei muscoli in modo da riscontrarne alla sera un indebolimento; ma quando alle mie abituali occupazioni si aggiunge qualche altro lavoro, il quale richieda molta attenzione, come sarebbe tenere una conferenza, e più ancora l'interrogare molti giovani agli esami, la sera mi sento veramente esaurito, le gambe sono stanche, la pressione sanguigna è diminuita, il polso si fa più celere, il meccanismo del pensiero e della sua estrinsecazione diventa tardo, la notte insonne, e la curva della fatica de' miei muscoli dimostra che essi sono notevolmente indeboliti. Ho eseguito la seguente esperienza allo scopo di determinare se, ed entro quali limiti, il massaggio possa rinforzare i muscoli indeboliti per questa causa.

Esperienza 14.

l giorno 14 luglio di quest'anno scrivo al mattino, verso le ant., la curva normale volontaria della fatica dei muscoli flessori dito medio delle due mani. Alle ore 2 pom. vado a dare gli

---

1) Milano, Treves, 1891.

esami d'Igiene insieme col prof. Bizzozero ed il Dr. Marco Soave. Essendo l'ultimo giorno della sessione di luglio, si presentarono all'esame venti giovani, dei quali una buona parte era inscritta per altri giorni, ed aveva chiesto il trasporto pel 14, per ragioni di malattia, o per altre cause. Interrogai tutti io questi giovani, e rimasi, così, intensamente occupato dalle ore due alle 7 precise. Verso le 5 si sospese per 5 minuti l'interrogazione e bevetti un bicchiere di birra.

Appena terminati gli esami, ritornai in laboratorio; mi sentivo molto stanco. Scrissi subito la curva della fatica dei muscoli flessori del dito medio di destra e di sinistra, ed ottenni i tracciati 3 e 4. Dopo mezz'ora ripetei i medesimi tracciati, nelle stesse condizioni, facendo precedere un buon massaggio misto per 10′. Riproduco solamente due dei tracciati ottenuti; uno, fig. 15, indica l'effetto del lavoro psichico eccessivo sopra la resistenza al lavoro dei muscoli; l'altro fig. 16, indica l'effetto che sui muscoli così indeboliti può produrre il massaggio.

Pel confronto con un tracciato normale della stessa mano si veda la fig. 10.

Fig. 15. Fig. 16.

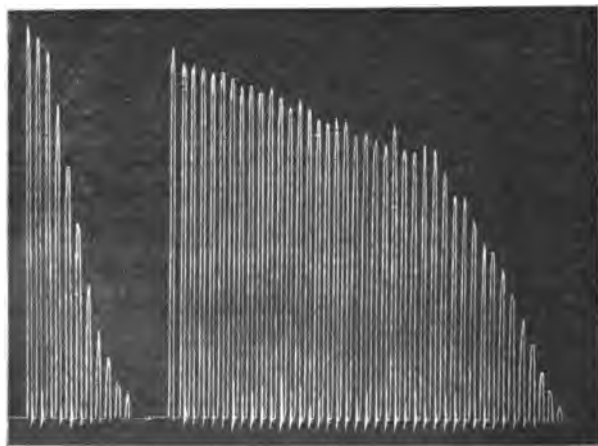


Fig. 15. — Tracciato 4. Esperienza 14. Curva volontaria della fatica dei muscoli flessori del dito medio di destra, indeboliti per effetto del lavoro psichico intenso e prolungato. Peso Kg. 3, Ritmo 2″.

Fig. 16. — Tracciato 6, Esperienza 14. Dimostra l'azione benefica sugli stessi muscoli del massaggio per 10′.

Nella tabella seguente sono esposti tutti i dati numerici dell'esperienza.

Tabella 14.

Peso 3 Kg. Ritmo 2″.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1	10 a.	normali	m. 1,530	Kgm. 4,590		
2	»	»			m. 1,696	Kgm. 5,088
3	7 p.	dopo un lavoro psichico intenso e prolungato	0,310	0,930		
4 fig. 15	»				0,302	0,906
5	7,35 p.	azione del massaggio p. 10′	1,350	4,050		
6 fig. 16	»				1,287	3,861

Dalle figure 15 e 16 e dalle cifre che esprimono la quantità del lavoro meccanico appare che i muscoli flessori, i quali in condizione normale avevano prodotto un lavoro uguale a Kgm. 5,088 per effetto del lavoro psichico eccessivo non possono più eseguire che un lavoro di Kgm. 0,906, cioè meno di $^1/_5$ della quantità normale.

Il muscolo si dimostra ancora capace di dare una prima contrazione, alta come in condizioni normali, ma dopo undici contrazioni rimane esaurito. Per effetto del massaggio applicato per 10′ noi vediamo però che, appena mezz'ora dopo, il muscolo diventa nuovamente atto ad eseguire un lavoro, il quale, se non è uguale alla norma, di poco si discosta.

L'esperienza 14ª prova anche più delle precedenti quanto ia potente l'azione del massaggio; imperocchè un indebolimento simile a quello osservato questa volta per effetto del avoro psichico eccessivo, mi occorse di rado riscontrarlo per cause fisiologiche nei muscoli che sono oggetto di studio. Inoltre, a dimostrare sempre più l'efficacia del massaggio, sta

anche il fatto che fra l'ultimo ed il penultimo tracciato dei muscoli delle due parti non era intercorso che un brevissimo periodo di riposo.

VIII.

Come appendice a queste osservazioni credo opportuno riportarne un'altra, che mi occorse casualmente di fare, e che per quanto esca dal campo puramente fisiologico, tuttavia può stare colle precedenti come quella che contribuisce ad illustrare l'azione del massaggio sulla funzione muscolare.

Esperienza 15.

Il giorno 17 novembre 1890, a causa di un leggiero disturbo gastro-enterico, proveniente dall'ingestione, fatta nello stesso giorno, di cibi mal preparati, ebbi nelle ore della sera un leggiero accesso febbrile, con brividi ripetuti. La temperatura ascellare, da me misurata alle ore 10 pom., era di 38°,2 C. Coricatomi, dormii un po' agitato, ma il 18 mattino io mi sentiva bene come al solito; la temperatura era di 36°,5, e si mantenne normale tutto il giorno. Andato in laboratorio alle 9 ant., e parendomi d'esser meno in gambe del solito, scrissi il tracciato della fatica dei muscoli flessori del dito medio di destra e di sinistra, col peso di 3 Kg. ed il ritmo di 2″. Riconobbi come i miei muscoli fossero notevolmente indeboliti. Alle 2 pom. scrissi nuovamente il tracciato della fatica dei muscoli flessori delle dita medie, facendo precedere un buon massaggio misto, pel periodo di 5′: alle 4,30 poi ripetei due altri tracciati senza massaggio. Ottenni così 6 tracciati, che per brevità ometto, ed espongo nella seguente tabella le cifre che esprimono la quantità del lavoro meccanico prodotto ogni volta dai muscoli.

Tabella 15.

Peso 3 Kg. Ritmo 2''.

Tracciato	Ore	Condizioni del lavoro	Mano sinistra		Mano destra	
			Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico	Altezza di sollevamento	Lavoro meccanico
1	9 a.	influenza di un leggiero accesso febbrile progresso	m. 0,875	Kgm. 2,625		
2	»				m. 0,915	Kgm. 2,745
3	2 p.	massaggio per 5'	2,121	6,363		
4		» » »			2,011	6,093
5	4,30 p.	senza massaggio	0,803	2,409		
6		» »			0,901	2,703

La presente esperienza serve a schiarire quel fatto, che già si intravvede colla semplice osservazione di noi medesimi, che anche un leggiero accesso febbrile può esercitare un'azione assai deprimente sulla resistenza al lavoro dei nostri muscoli: questi, senza perdere l'attitudine ad eseguire una prima contrazione normale, divengono però molto più accessibili alla stanchezza.

Essa ci prova eziandio che il massaggio può modificare notevolmente ed anche togliere del tutto, almeno in modo temporaneo, la debolezza dei muscoli proveniente da tale causa (1).

---

(1) Attendevo alla correzione delle bozze di questo lavoro quando in una serie di ricerche, che il mio amico Dott. G. S. Vinaj ed io stavamo facendo sopra l'azione delle applicazioni idroterapiche sul sistema musco- ı, abbiamo riconosciuto che il massaggio può eziandio far cessare del o il notevole indebolimento dei muscoli che sussegue al bagno caldo. te ricerche sono attualmente in corso di pubblicazione nelle *Archives 'iennes de Biologie* e nei *Blätter f. klin. Hydrotherapie.*

IX.

Azione del massaggio sui muscoli anemici.

Nel mio lavoro sulla fatica ho dimostrato che l'anemia praticata per un breve spazio di tempo, 3′ a 5′, produce nei muscoli dei fenomeni simili a quelli della fatica, ne diminuisce cioè notevolmente la forza e la resistenza al lavoro.

Per studiare più davvicino il meccanismo d'azione del massaggio ho ricercato se esso sia capace di modificare l'effetto esauriente spiegato dall'anemia.

Esperienza 16.

Il giorno 19 agosto 1891 alle ore 8 ant. ho tentato di scrivere il tracciato della fatica dei muscoli flessori del dito medio di sinistra col peso di un Kg. ed il ritmo di 2″ (1); le contrazioni erano volontarie.

Con un peso così piccolo, questi miei muscoli, lavorando per ordine della volontà, in condizioni normali, non si stancano che in capo ad un periodo di tempo molto lungo. Dopo $^3/_4$ di giro del cilindro, dopo 265 contrazioni, sospendo perchè queste sono ancora pressochè invariate nella loro altezza, i muscoli non dànno sintomi apparenti di stanchezza. Succede un periodo di riposo di due ore e quindi, avendo io fissato l'antibraccio nell'Ergografo nel solito modo, il dott. Grandis mi fa per 3′ l'anemia dell'antibraccio colla compressione digitale dell'arteria omerale sulla docciatura dell'omero. Appena terminato il terzo minuto primo, e continuando l'anemia, io scrivo nuovamente la curva della fatica degli stessi muscoli col medesimo peso ritmo.

Dopo altre 2 ore, fissate ancora le dita nell'Ergografo, il dott. Grandis mi fa nuovamente per 3′ l'anemia colla compressione del

---

(1) Mi sono servito appositamente di un peso molto piccolo pei muscoli flessori del dito medio che si contraggono dietro l'ordine della volontà, affinchè potessero facilmente riconoscersi modificazioni anche leggiere prodotte dal massaggio.

È noto dalle mie osservazioni che i muscoli flessori del dito medio in una persona sana, a sistema muscolare bene sviluppato, possono sollevare pesi di 10-12 ed anche più Kg. — Esperimentando coll'anemia si vede però che molte volte già dopo 3′ della sua azione i muscoli sono affatto impotenti a sollevare un peso di 3 Kg.

l'omerale, e nello stesso tempo il dott. Colla mi pratica un buon massaggio misto sull'antibraccio. Finito il 3° minuto, continuando l'anemia, io subito scrivo il tracciato della fatica in queste condizioni.

Ottengo così complessivamente tre tracciati, dei quali riproduco i due ultimi intieramente, fig. 18 e 19, e per brevità solo una parte del primo fig. 17; la rimanente parte di questo è ad essa identica.

Fig. 17. Fig. 18. Fig. 19.

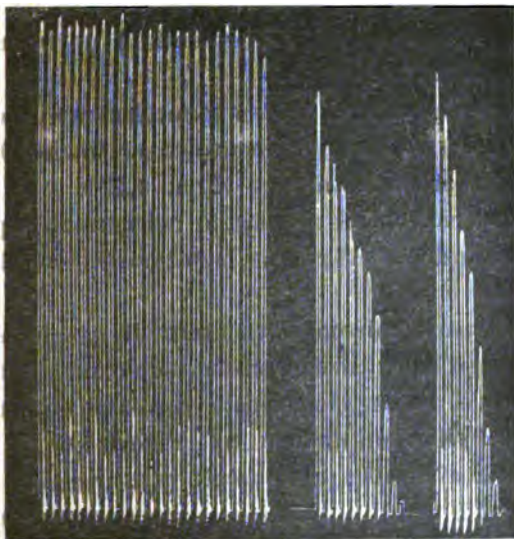


Fig. 17. — Rappresenta una piccola parte del tracciato 1°. Alcune contrazioni dei muscoli flessori del dito medio fatte volontariamente col peso di 1 Kg. ed il ritmo di 2″.

Fig. 18. — Curva della fatica degli stessi muscoli col medesimo peso e ritmo, dopo 3′ di anemia.

Fig. 19. — Curva id. id. dopo 3′ di anemia e di massaggio applicati contemporaneamente.

Espongo poi qui sotto la quantità calcolata di lavoro meccanico ciascuna volta prodotta dai muscoli nelle tre diverse osservazioni.

	N° delle contrazioni. N°	Altezza di sollevamento. Metri	Lavoro meccanico. Kgm.
Tracciato 1°. Serie di contrazioni massime fatte dai muscoli flessori del dito medio col peso di 1 Kg. ed il ritmo di 2″. Si cessa prima che compaia la stanchezza.	265	17,755	17,755
Tracciato 2°. Curva della fatica degli stessi muscoli col medesimo peso e ritmo dopo 3′ di anemia (fig. 18).	11	0,357	0,357
Tracciato 3°. Curva della fatica id. id. dopo 3′ di anemia e di massaggio praticati contemporaneamente (fig. 19).	9	0,276	0,276

Dall'esame delle figure 17, 18, 19 e dai dati numerici che esprimono il lavoro fatto dai muscoli, risulta che:

1° I muscoli flessori del dito medio contraendosi in condizioni normali volontariamente con un peso di 1 chilogr. producono contrazioni 265 corrispondenti ad un lavoro meccanico di Kgm. 17,755 senza mostrarsi stanchi.

2° Gli stessi muscoli sotto l'azione dell'anemia di 3′ non dànno più che 11 contrazioni equivalenti ad un lavoro meccanico di Kgm. 0,357.

3° Infine contraendosi contemporaneamente sotto l'azione dell'anemia e del massaggio producono contrazioni 9, equivalenti ad un lavoro meccanico di Kgm. 0,276.

Noi vediamo cioè che il massaggio nei muscoli, i quali sono privi di circolazione sanguigna, si dimostra completamente senza effetto.

Se ora noi paragoniamo il risultato di questa esperienza con quello delle esperienze precedenti dobbiamo conchiudere che l'azione del massaggio consiste essenzialmente in un riattivamento dei fenomeni della circolazione locale, il quale ha per effetto sia di fornire ai muscoli una maggiore quantità di sostanze utili per la contrazione, sia di allontanarne i prodotti regressivi della contrazione.

Ho ripetuto altre volte questa esperienza con identico risultamento; e, come del resto si poteva prevedere, confermai il medesimo fatto ricercando sui muscoli, nei quali l'anemia era ottenuta per mezzo della benda elastica di Grandesso Silvestri. In quest'ultimo caso non riesce però sempre di condurre a termine l'esperienza, perocchè spesso insorge tosto un crampo assai doloroso; e si hanno eziandio alcune cause di errore, come la compressione totale delle vene e dei dotti linfatici, oltrechè del nervo mediano, alla quale ultima è principalmente da attribuirsi il crampo. Tali cause d'errore sono evitate, quando la compressione dell'omerale sia accuratamente praticata colle dita.

Riassumendo, dalle mie esperienze risultano i seguenti fatti:

1° Il massaggio, applicato su di un muscolo in riposo, ne aumenta la resistenza al lavoro, e modifica la curva della fatica, ritardando il manifestarsi di questa.

2° L'effetto benefico del massaggio è, entro certi limiti, proporzionale alla sua durata; oltrepassati detti limiti, se anche si prolunga la manovra, non si ottiene un ulteriore aumento nella produzione del lavoro meccanico.

3° Il massaggio può impedire quello accumularsi della fatica nel muscolo che proviene dall'eseguire lavori troppo avvicinati fra di loro.

4° Le diverse maniere di massaggio agiscono con differente efficacia sull'attitudine del muscolo a lavorare: il *soffregamento* e la *battitura* si dimostrano inferiori allo *impastamento* ed al massaggio *misto*.

5° Nel muscolo indebolito dal digiuno si può, col massaggio, migliorare notevolmente le condizioni di resistenza al lavoro.

6° Sul muscolo affaticato od indebolito da una causa, che agisca sopra tutto il sistema muscolare, come le lunghe marcie, la veglia, il lavoro psichico eccessivo, un accesso febbrile pregresso, ecc., il massaggio spiega un'azione riattivante, la quale può riportare alla quantità normale la produzione di lavoro meccanico.

7° L'effetto benefico del massaggio sui fenomeni della contrazione e del lavoro muscolare cessa di manifestarsi allorquando esso venga applicato su un muscolo privo del libero afflusso sanguigno.

Torino, 7 Settembre 1891.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 3.

Clinica Oculistica della R. Università di Pisa.
(Prof. N. MANFREDI).

A PROPOSITO DELL'AZIONE
DELLE

INALAZIONI DI BICLORURO DI ETILENE SULLA CORNEA

OSSERVAZIONI SPERIMENTALI

DEL DOTTOR
E. FARAVELLI

Il Prof. Dubois studiando l'azione fisiologica di alcuni anestetici (1) osservò un fatto assai interessante dovuto all'azione del bicloruro di etilene (olio degli Olandesi) $C^2 H^4 Cl^2$. Parecchie ore dopo (10-15) l'inalazione o l'iniezione ipodermica ad un cane di questo etere, le sue cornee diventano opache, come di porcellana opalescente, globose, i vasi episclerali sono iniettati, vi è fotofobia che scompare dopo qualche giorno e notevole ambliopia. Questo opacamento dura più o meno (una o parecchie settimane) a seconda della sua maggiore o minore intensità ed è seguito da guarigione perfetta.

La spiegazione di questo fatto proposta dall'A. (2) sarebbe la seguente: l'olio degli olandesi, penetrato nel sangue, passerebbe nella camera anteriore dell'occhio, da questa nelle lamine della cornea producendo quivi prima una disidratazione, poscia una iperidratazione.

Ciò sarebbe in armonia con altre precedenti esperienze del-

(1) R. Dubois, « Étude comparative des propriétés physiologiques des composés chlorés de l'éthane » (*Arch. de Phys.*, 1888, t. 2°, p. 298 e 339).
(2) R. Dubois, *Compt. R. de la Soc. Biol.*, 1884, p. 582 e 625.

l'A. sul meccanismo di azione degli anestetici, avendo egli trovato che il cloroformio, l'etere e l'alcool sottraggono dell'acqua ai tessuti vegetali ed animali; questa disidratazione sarebbe la causa della semicoagulazione transitoria degli albuminoidi ammessa da C. Bernard per spiegare l'azione degli anestetici (1). — Da una breve descrizione del reperto anatomico dei suoi animali appare che solo « la parte media della « cornea è alterata, e la lesione risulterebbe non da un pro« cesso infiammatorio franco, ma da un ispessimento delle « lamine corneali prodotto da una imbibizione, una idratazione « esagerata ineguale dei loro elementi costitutivi ».

Ho voluto ripetere queste esperienze non solo per la curiosità di constatare de visu un fatto che interessa in modo speciale l'oculista, ma specialmente perchè mi pareva poco soddisfacente la spiegazione che dello stesso dava l'autore. — Ammesso che questo etere passi nell'acqueo, era naturale pensare che prima di penetrare nel parenchima corneale dovesse in un modo o nell'altro farsi una breccia attraverso all'*endotelio posteriore*, che, come è noto per le esperienze di Leber, His ed altri, protegge la cornea contro la filtrazione dell'acqueo. Ora di queste eventuali alterazioni della descemeti, che secondo il mio modo di vedere, appoggiato alle cognizioni anatomiche e fisiologiche, avrebbero dovuto costituire il fatto primo, causale di questo fenomeno interessante, l'A. non dice parola.

All'esame istologico di una cornea di cane, in cui tale opacamento datava da due giorni, ho constatato una evidente alterazione della descemeti ed altre particolarità istologiche che riferirò avanti e mi incoraggiarono a continuare le ricerche.

Qui intanto devo dire che mentre queste erano già avanzate venni a cognizione di una breve nota di Panas sullo stesso argomento (2). — Citati i fatti macroscopici osservati, che dif-

---

(1) C. Bernard, « Leçons sur les anesthésiques et sur l'asphyxie », 1875, p. 153.

(2) Panas, « Action des inhalations du chlorure d'éthylène sur l'œil » (*Arch. d'Ophtal.*, 1889, p. 78).

feriscono solo in qualche particolare da quelli descritti da Dubois, riguardò al reperto istologico dice: « l'opacamento « deriva da una infiltrazione sierosa della cornea: il mecca- « nismo dell'edema del tessuto corneale dipende dalla distru- « zione per questo agente dell'endotelio della cornea che solo « protegge questa contro l'invasione dell'acqueo, come fu di- « mostrato da Leber con esperienze già antiche ».

Dopo questa nota, che evidentemente ha avuto lo stesso movente delle mie ricerche, mi sarei astenuto dal pubblicare i risultati di queste se il materiale anatomo-patologico che già avevo raccolto non mi avesse, se non mi inganno, dimostrato che il fenomeno morboso pur avendo per causa prima l'alterazione dell'endotelio, è spesse volte più complesso e non spiegabile solo con una semplice infiltrazione dell'acqueo, e se non avessi da aggiungere qualche particolarità sfuggita ai due suddetti autori. Aggiungerò che non mi pare fuori di proposito tornare su questo argomento, avendo visto che Dubois in una risposta a Panas (1) insiste sulla spiegazione del fatto da lui data.

Devo notare anzitutto, per ovviare a possibili obiezioni, che l'olio degli olandesi di cui mi sono servito, fornitomi cortesemente dal Prof. T. Brugnatelli di Pavia, che qui ringrazio, era assolutamente puro.

L'inalazione durava da $^3/_4$ d'ora a un'ora e $^1/_4$, impiegando da 5 a 15 c. c. di sostanza, secondo il peso dell'animale — per iniezione ipodermica ne adoperavo da 3 a 5 c. c.

Gli occhi da esaminarsi li ponevo per due giorni in acido cromico (1 : 400) che fissa assai bene gli elementi corneali ; dopo lavatura abbondante li passavo in alcool e celloidina.

Nelle prime esperienze enucleavo un occhio sano ad un animale prima di sottoporlo all'esperienza per servirmene di ontrollo. Sulle alterazioni macroscopiche, sulla loro apparizione e decorso credo inutile insistere dopo l'esatta e minuziosa descrizione data da Dubois.

(1) R. Dubois, « Note sur l'action du chlorure d'éthylène sur la ornée » (*Compt. Rend. de la Soc. de Biologie*, 1889, p. 82).

Solo devo notare, come del resto aveva già osservato Panas, che invece di una tensione glaucomatosa ho trovato spesse volte ipotonia, talora una vera ottalmomalacia al punto che in un caso avendo tra le mani un bulbo enucleato temetti di averlo in qualche punto intaccato colle forbici, ciò che non era.

Facendo delle sezioni antero-posteriori dell'occhio che comprendevano cornea, iride e capsula anteriore del cristallino, ho trovato quasi costantemente applicato qua e là alla superficie posteriore della cornea uno strato irregolare di sostanza finamente granulosa nella quale si trovavano impigliate le cellule endoteliali cadute, staccate od in ammassi.

In un caso in cui l'inalazione fu protratta per un'ora e un quarto, in alcuni punti di questo strato si riconosceva distintamente un reticolo con tutti i caratteri di fibrina contenente leucociti. — Le cellule endoteliali talvolta non presentavano alterazioni gravi, ma più spesso erano assai rigonfiate, vescicolose, col nucleo spinto ad una estremità, protoplasma trasparente. Nella prima settimana dopo la comparsa della opacità non vi riscontrai mai, al contrario di Panas, forme cariocinetiche. Come era da prevedersi, trovai che quasi sempre l'endotelio della faccia anteriore dell'iride, il quale si continua colla descemeti, presentava queste stesse alterazioni. Le maglie dello stroma irideo erano in questi casi più divaricate, fatto confronto coll'iride dell'occhio sano dello stesso animale.

Le alterazioni più gravi della cornea risiedono di solito nei suoi strati posteriori, e non sempre consistono in un semplice edema, poichè quando l'inalazione fu abbondante, la presenza di discreto numero di leucociti accenna ad un vero processo infiammatorio. In qualche caso poi tutta la periferia della cornea, specialmente negli strati anteriori era infiltrata di leucociti, e questo fatto fa credere che la presenza nel sangue dei vasi pericheratici di questo agente irritante sia la causa della migrazione di questi elementi. È supponibile quindi che in questi casi l'azione dell'etere sulla cornea si manifesti per due vie, alla sua superficie posteriore ed alla sua periferia.

Panas dice che « l'epitelio anteriore della cornea come

« pure la membrana di Bowman rimangono intatti ». Lasciando in disparte la membrana di Bowman che nel cane non esiste, l'epitelio presenta qualche volta le traccie di un processo irritativo colla presenza di numerose forme cariocinetiche: il confronto con quello dell'occhio sano dello stesso animale mi fa escludere che si tratti di un processo fisiologico. È indubitato però che questo fatto è dovuto all'azione irritante esercitata dall'etere durante l'inalazione e non alla eliminazione di questo, poichè nei casi in cui si somministrò per iniezione sottocutanea l'epitelio appariva normale.

Nei casi in cui l'edema invade tutti gli strati della cornea le lamelle di questa soggiacenti all'epitelio si trovano divaricate in modo da lasciare per parecchi tratti immediatamente sotto l'epitelio uno strato amorfo che simula la membrana di Bowmann.

Dubois nella sua risposta a Panas osserva che appena « comparsa l'opacità, l'endotelio è ancora in posto, ma ha subito una modificazione morfologica, per cui le cellule staccandosi in alcuni punti le une dalle altre lasciano dei meati « attraverso i quali l'aqueo può penetrare. L'epitelio dunque « è ancora in posto quando comincia l'opacità e non basta « per spiegar questa ammettere la produzione di una semplice « desquamazione. Il processo è più complesso ». E qui allude alla disidratazione e successiva idratazione.

Ammesso pure che tale sia sul principio l'alterazione della descemeti, essa sarebbe sempre primitiva, e non si tratterebbe che di differenze di gradi nel processo che la invade. Ma contro l'ipotesi di Dubois della disidratazione delle lamine corneali sta il fatto che questa non potrebbe passare inosservata tanto clinicamente che all'esame anatomico. Sappiamo che le più piccole alterazioni della cornea appena riconoscibili al microscopio fanno perdere là dove si trovano a questa membrana a sua trasparenza; ora un processo come questo che invaderebbe irregolarmente la cornea, dovrebbe obiettivamente sotto qualche forma manifestarsi, e la prima alterazione anatomica dovrebbe essere di natura opposta a quella che costantemente

fu osservata. Dubois produsse questa disidratazione *in vitro* ponendo un frammento di cornea in olio degli olandesi e l'iperidratazione portandolo quindi in acqua. Ma nell'occhio dell'animale vivo le condizioni dell'esperienza sono affatto diverse. L'acqueo si secerne ed elimina continuamente e la piccola quantità di etere che durante l'eliminazione sua arriva nella camera anteriore, alterato l'endotelio per una semplice disidratazione o coagulazione del protoplasma cellulare, o più probabilmente per un processo irritativo apre la via all'acqueo che produce nella cornea una semplice idremia se l'inalazione fu scarsa e l'eliminazione di breve durata, un'idremia accompagnata da fenomeni flogistici nel caso opposto.

Le iniezioni di bicloruro di etilene che Dubois ha praticato nella camera anteriore, se dimostrano col loro effetto il passaggio in questa dell'etere, non tornano punto, come egli vorrebbe, in appoggio di un processo di disidratazione e iperidratazione. Egli dice che questa operazione non determina infiammazione apparente, ma che il giorno appresso l'occhio iniettato presenta tutti i caratteri dell'alterazione descritta. Non aggiunge se fu fatto l'esame anatomico.

Per parte mia ho constatato che iniettando colle debite cautele 1-2 goccie di bicloruro nella camera anteriore di un cane narcotizzato profondamente per evitare lesioni dell'iride o del cristallino, questo al suo risveglio dà segni non dubbi di dolori all'occhio, sta appiattato in luogo oscuro, tiene l'occhio socchiuso e divaricandogli le palpebre, si osserva che l'iniezione pericheratica è più viva che non in seguito alla inalazione, la pupilla è miotica e, ancor prima che compaia l'opacità, nella camera anteriore e sulla cristalloide si vede qualche fiocco di essudato. L'opacità non presenta macroscopicamente differenze di rilievo dall'altra descritta, ma il reperto anatomico non è lo stesso. Qui ci troviamo innanzi ad un processo infiammatorio deciso: la camera anteriore contiene grumi di fibrina e leucociti abbondanti, l'iride e la cornea sono pure infiltrate di leucociti, questa ultima specialmente alla sua periferia, e l'edema figura come fenomeno secondario.

Dubois, sempre in base alla spiegazione da lui data, si era proposto di ottenere una disidratazione prolungata della cornea mediante inalazioni ripetute di bicloruro e d'impedire così il formarsi dell'opacità. Bisognerebbe intanto ammettere che la disidratazione non dia perdita di trasparenza della membrana, inoltre che la secrezione dell'acqueo zittisse completamente; è naturale poi, che caduto l'endotelio per la prima inalazione, le successive non potranno che aggravare il fenomeno aggiungendo per l'accumulo di questo agente irritante nella camera anteriore fenomeni infiammatorii se prima non esistevano. Il processo di riparazione non può evidentemente verificarsi che dietro la riproduzione dell'endotelio.

Un fatto curioso riguardo all'azione fisiologica di questo etere è che solo nel cane, per quanto ne so, produce questo fenomeno. Ho tentato inalazioni ed iniezioni sottocutanee ripetute fino a dosi tossiche nei conigli, senza risultato. Rabuteau, che ne studiò l'azione fisiologica sulle cavie, non constatò nulla di simile. Sulla cornea dell'uomo pure non avrebbe azione poichè nel 1848-49 Simpson, Snow e Nunneley l'impiegarono come anestetico e l'ultimo di questi lo raccomandò vivamente (1). Dipende forse questo fatto da una maggiore lentezza di eliminazione dello stesso per parte dell'umor acqueo nel cane, o da una minore resistenza dell'endotelio di questo animale contro agenti irritanti?

Ho voluto provare se il bromuro di etilene $C^2H^4Br^2$, isomero del precedente, che ebbi puro per cortesia del Prof. G. Bertoni, avesse un'azione analoga. Questo corpo è insolubile nell'acqua, stabile nelle condizioni ordinarie e fuori dell'azione della luce. La potassa caustica a caldo lo scompone, in soluzione alcoolica essa agisce più rapidamente e profondamente. È solido a +9,53°, liquido alla temp. ordinaria. Il peso specifico è di 2,1827 a 20°, di 2,2132 a 0°. Il punto d'ebollizione è a 131,6°. — Non conoscendone le proprietà fisiologiche e supponendo che come il suo isomero avesse proprietà ipno-

(1) Dastre, « Les anesthésiques », Paris, 1890, p. 200.

tiche ne feci inalare ad un cane del peso di 6 Kgr. 10 c. c. Non ottenni una narcosi completa: l'animale era profondamente assopito, la respirazione irregolare, per cui sospesi l'inalazione. Tenni l'animale in osservazione per 4 ore circa; si mostrava assai abbattuto, apatico, paretiche le estremità posteriori. Il mattino del giorno seguente fu trovato morto: rigidità cadaverica, cornee lievemente opalescenti. — In un altro cane della stessa grossezza l'iniezione sottocutanea di 3 c. c. di bromuro fu seguìta dopo 12 ore da opalescenza lieve delle cornee; l'animale presentava gli stessi fenomeni di prostrazione dell'altro e 36 ore dopo l'iniezione morì. Si trovò un'edema poco accentuato degli strati posteriori delle cornee. Le cellule endoteliali presentanti le alterazioni sopra descritte erano completamente staccate e grandi cumuli di esse circondati da sostanza granulosa si trovavano applicati alla superficie posteriore della cornea. Non ho continuato queste ricerche non avendo a mia disposizione che una piccola quantità di questa sostanza; non posso quindi affermare se a dosi non letali essa produca gli stessi fenomeni oculari.

Dai fatti descritti mi pare si possa conchiudere:

1° Le lesioni corneali consecutive ad inalazione o ad iniezione ipodermica di bicloruro d'etilene sono dovute ad alterazioni primitive della descemeti.

2° Queste alterazioni si estendono quasi sempre alla porzione di endotelio riflessa sull'iride e in questo caso anche lo stroma irideo ne risente.

3° La cornea in questo processo presenta un semplice edema od un edema accompagnato da fenomeni infiammatorii, secondo la dose somministrata.

4° L'iniezione di bicloruro di etilene nella camera anteriore è seguita prevalentemente da fenomeni infiammatorii.

5° Il bromuro di etilene riguardo all'occhio (almeno a dosi letali) ha sempre un'azione congenere a quella del suo isomero.

Pisa, Giugno 1890.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 4.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Padova,
diretto dal Prof. A. Stefani.

LE TERMINAZIONI NERVOSE
DEI MUSCOLI LARINGEI DEL CAVALLO

NOTA

DEI DOTTORI
A. CAVAZZANI ed **U. STEFANI**

Il nervo laringeo superiore del cavallo, a differenza di quanto avviene nell'uomo e negli altri mammiferi, è costituito unicamente di fibre sensitive. Ciò fu assodato da H. Möller (1) nel 1888. Ad onta di ciò, il taglio di questo nervo determina, secondo quest'autore, atrofia completa dei muscoli laringei dello stesso lato. Tale fatto dimostrerebbe, secondo lo stesso autore, l'esistenza, nel nervo laringeo superiore, di fibre trofiche pei muscoli laringei perfettamente distinte dalle fibre motorie. Il Prof. Exner (2), nel 1889 confermò le osservazioni del Möller, e dimostrò per di più che il taglio del nervo laringeo superiore nel cavallo ha per conseguenza immediata la paralisi dei muscoli laringei dello stesso lato, ed attribuì l'atrofia di questi muscoli alla loro inattività, anzichè all'abo-

(1) H. Möller, « Die Kehlkopfpfeifen des Pferdes », Stuttgart, 1888.
(2) S. Exner, « Ein physiologisches Paradoxon, betreffend die Innervation des Kehlkopfes » (*Centralbl. f. Physiol.*, 1889, n. 6).

lizione dell'innervazione trofica. Il suo discepolo Pineles (1) poi, studiando le alterazioni istologiche di tutti i muscoli laringei paralizzati e divenuti atrofici in seguito al taglio del nervo laringeo superiore, osservò che queste alterazioni rappresentano una degenerazione che ha quasi completamente i caratteri della distrofia muscolare progressiva di Erb; solo il muscolo crico-tiroideo farebbe eccezione, non presentando alcuna alterazione in seguito al taglio di detto nervo.

Essendo stata contraddetta l'esattezza di queste osservazioni da Breisacher (2), nel laboratorio di H. Munk, noi cercammo, per consiglio del Prof. Stefani, se qualche diversità morfologica delle terminazioni nervose, o delle fibre muscolari, dei muscoli laringei del cavallo potesse venir in appoggio ai fatti di Möller e di Exner. Il concetto che ci guidava a tale ricerca, quantunque potesse a bella prima sembrar strano, si appoggiava alle conclusioni di un esteso lavoro letto da Semon ed Horsley al Congresso internazionale di Berlino (3), sui rapporti fra la laringe ed il sistema nervoso motore, nel quale è dichiarata come cosa verisimile che le differenze esistenti fra i diversi muscoli laringei rispetto alle lesioni organiche progressive (per cui i primi a paralizzarsi sono sempre i muscoli dilatatori della glottide) dipendano da qualche differenza nella *costituzione dei muscoli stessi e delle loro terminazioni nervose.*

Perciò noi abbiamo eseguito una lunga serie di preparazioni istologiche dei muscoli e delle loro terminazioni nervose, confrontando dapprima fra loro i muscoli di varie specie zoologiche (cane, coniglio, cavallo), successivamente muscoli delle varie parti del corpo del cavallo, e da ultimo i diversi muscoli della laringe del cavallo, con particolare riguardo al cricotiroideo. Il materiale di ricerca era tolto freschissimo da ani-

---

(1) F. Pineles, *Pflüger's Arch.*, 1890, B. XLVIII, 1-2. « Die Degeneration der Kehlkopfmuskeln beim Pferde nach Durchschneidung des Nervus laryngeus superior und inferior ».

(2) Breisacher, *Centralblatt f. d. med. Wissensch.*, 1889 n. 43.

(3) F. Semon e V. Horsley, *Deutsche med. Woch.*, 1890, n. 31.

mali appena uccisi: parte veniva indurito nel liquido di Müller o di Erlitzky, e poi preparato per l'inclusione in paraffina o celloidina, tagliato col microtomo, e colorato col carminio alluminoso, o coll'ematossilina; parte veniva sottoposto all'azione del cloruro d'oro, sia previa macerazione con acidi organici (acetico, formico, citrico), secondo le indicazioni di Éternod (1), Galeazzi (2) ecc., sia secondo i metodi ordinari indicati dai manuali di tecnica microscopica dello Stöhr, del Kahlden, del Friedländer-Martinotti, e poi trattato cogli acidi per la riduzione del sale d'oro.

I risultati ottenuti furono completamente negativi: non ci fu dato cioè di scorgere alcuna differenza morfologica nè fra le fibre muscolari, nè fra le terminazioni nervose. L'unica differenza costante da noi osservata consiste nel numero delle terminazioni nervose, il quale nel muscolo cricotiroideo è notevolmente più scarso che negli altri muscoli laringei. Oltre a ciò abbiamo notato più volte nei muscoli laringei *normali* (del cavallo) quella particolare reazione alle sostanze coloranti descritta da Pineles come fatto anormale, e consistente in una colorazione a zone alternativamente più chiare e più scure, la quale per conseguenza devesi riguardare come un fatto accidentale, o per lo meno indipendente dal taglio del nervo laringeo superiore.

Il risultato negativo delle nostre ricerche ci consigliava naturalmente a lasciarle nell'oblio. Senonchè, avendo recentissimamente Breisacher in unione con Gützlaff (3), e sotto il controllo di Müller, Schülz, Munk e Baginsky, smentito di nuovo nel modo più categorico i risultati di Möller e di Exner, credemmo opportuno pubblicarle, potendo esse venir in appoggio, per quanto debolmente, ai lavori di Breisacher. Dei quali ci piace qui rilevare il seguente particolare interessante: in tre cavalli, operati del taglio del nervo

1) Éternod, « Guide technique du Laboratoire d'Histologie », 1886.
2) Galeazzi, *Arch. italiennes de Biologie*, 1888.
3) L. Breisacher u. Th. Gützlaff, « Versuche am Nervus laryngeus superior des Pferdes » (*Centralblatt f. Physiol.*, 1891, V, 10).

laringeo superiore di un lato, non si notò alcuna lesione dei muscoli laringei nè all'esame laringoscopico, nè all'esame microscopico: anzi in uno si constatò atrofia dei muscoli laringei del lato non operato: il che tende a far credere, secondo noi, che tale atrofia non sia un fatto assolutamente raro nel cavallo, e che Möller ed Exner probabilmente sieno stati ingannati da una semplice coincidenza.

Padova, nel Settembre del 1891.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 5.

Istituto Anatomo-Patologico della R. Università di Padova.

TRICOFITIASI DERMICA A FORMA PENFIGOIDE

E

POLINEURITE TRICOFITICA

IN INDIVIDUO AFFETTO DA TABE DORSALE

Osservazioni e Ricerche

del

Prof. A. BONOME

(Tav. I)

La maggior parte delle alterazioni prodotte nell'organismo umano dal *tricophyton tonsurans* si limita a dei processi che hanno sede nella cute o nelle appendici cutanee (peli, unghie) e che si caratterizzano talora sotto forma di eruzioni eritematovescicolari, o di sicosi, o di kèrion (Maiocchi), e talora sotto forma di alopecia areata (Schütz) od anche di pseudoarea (Mazza). — Lo studio però delle proprietà biologiche di questo ifomiceta, specialmente per ciò che riguarda il modo di comportarsi del medesimo in grembo ai tessuti del corpo animale è tutt'altro che completo, come poco sicuri sono talora i criteri di cui disponiamo per riconoscere il suddetto parassita, imperocchè da un lato esso può assumere forme differenti nei diversi animali, e dall'altro non presenta organi speciali di fruttificazione che valgano a caratterizzarlo. Inoltre è ancora dubbio se questo fungo possa al pari di altri invadere le

parti più profonde dei tessuti e penetrare negli organi interni. L'unica dimostrazione che in proposito possediamo si è quella data da **Campana**, il quale descrisse nel 1889 un caso di tricofitiasi dermica, in cui, oltre alle vegetazioni del fungo nell'epidermide e nelle unghie, esistevano dei miceli nell'interno del corion, e nello spessore di un tumore connettivo duro, della grandezza di un uovo di gallina, i cui elementi si mostravano intercalati da micelii pigmentati e granulosi e da gonidii parimenti granulosi.

Riguardo alla possibilità di moltiplicarsi del fungo dell'herpes negli organi interni del corpo umano e di destarvi degli speciali processi patologici, nulla fino ad oggi si sa di positivo.

Per cui questo fungo dalla massima parte dei bacteriologi e dei patologi viene considerato come uno stretto epifita, e la mancanza di prove sicure intorno alla capacità di diffondersi del parassita negli organi interni rappresenta un valido appoggio per coloro che sostengono essere l'azione patogena di questo ifomiceta limitata esclusivamente alla cute ed alle sue appendici.

L'esempio che sto per comunicare di infezione diffusa da trichophyton è forse l'unico del genere stato fino ad oggi registrato, ed apparisce grandemente interessante, poichè il parassita non solo diede origine ad insolite alterazioni della cute, della cornea e della lingua, ma, diffondendosi lungo i nervi, contribuì allo sviluppo di una polineurite.

Questo caso che fu oggetto di dettagliate ricerche nel corso di quest'anno si presta ad una serie di utili considerazioni non solo sulla biologia del fungo, ma ancora sul nesso che può esistere tra le alterazioni della cute e quella dei nervi e dei centri nervosi.

Si tratta di un individuo dell'età di 45 anni, che, per la sua professione di negoziante in bestiami, si era per lo passato esposto ad eccessive fatiche corporali. Nel 1883 fu accolto nella Clinica Medica di Padova, presentando dei dolori neuralgiformi a tipo folgorante in corrispondenza delle dita dei piedi e dei

polpacci delle gambe dapprima, alle coscie ed agli arti superiori di poi. Questi dolori si andarono man mano accompagnando con diminuzione della sensibilità tattile e dolorifica, con parestesie agli arti inferiori, e con pervertimento del senso muscolare; il paziente, durante il suo breve soggiorno nella Clinica, camminava di già barcollando ed il barcollamento aumentava ove si bendassero gli occhi al paziente. In base a questi fenomeni ai quali si aggiungeva ancora un manifesto indebolimento della funzione genitale, strabismo intercorrente con conseguente diplopia, nonchè un certo grado di atrofia della papilla del nervo ottico, venne stabilita la diagnosi di atassia locomotrice. — Ciò che di particolare si aveva in questo caso era l'aumento della secrezione del sudore, della quale il paziente si lagnava.

Rimase in clinica per due settimane, durante le quali gli vennero praticate le cauterizzazioni ai lati della colonna vertebrale.

Visse in seguito per quattro anni e mezzo circa senza che sia noto in quale stato di salute; dopo di che il paziente cominciò a notare sulla sua cute, che si era fatta arida ed atrofica, delle vescicole e delle bolle irregolarmente distribuite, di varia grandezza, a contenuto piuttosto torbido, le quali nello spazio di pochi giorni si dissecoavano, lasciando delle croste che rimanevano aderenti per un tempo variabile e mantenevano al di sotto un essudato siero purisimile. Tutto all'intorno l'epidermide si desquamava e la palpazione di una plica di cute non lasciava rilevare alcun ispessimento nel derma sottostante. L'insorgenza di queste bolle andò facendosi man mano più confluente ed oltre che alla cute si estesero alla superficie della cornea e della lingua. La comparsa di queste vescicole sulla cornea si accompagnava con un discreto intorbidamento della cornea medesima per un leggiero accumulo di leucociti all'intorno; e per il rompersi di queste vescicole risultavano delle ulcerazioni corneali a margini irregolari, ispessiti ed a fondo grigiastro, costituito da un materiale molle aderente, fornito dal tessuto corneale mortificato. Taluna di queste ulce-

razioni interessò la cornea a tutto spessore per modo che si ebbe anche procidenza dell'iride. Alla superficie dorsale della lingua verso l'apice si formarono pure delle ulcerazioni, a margini infiltrati, le quali si riparavano a stento.

Intanto l'eruzione bollosa della cute andò nel corso dell'anno 1890 facendosi sempre più estesa e confluente, mentre la cute, in luogo di presentare infiltrazioni od ispessimenti, si rese sempre più atrofica e pigmentata. In corrispondenza delle mani e dei piedi l'epidermide andava desquamandosi in sottili squamette, e le unghie a poco a poco cessarono di crescere, perdettero la loro normale levigatezza, si resero ispessite, friabili e gradatamente si distaccarono dalla rispettiva matrice.

Ai fenomeni dell'atassia, i quali erano andati sempre più crescendo, in guisa da non permettere più al paziente di camminare si aggiunse il marasmo che andò progressivamente aumentando, finchè il paziente, dopo circa un anno di degenza nell'ospedale, cessò di vivere il 26 novembre 1890.

AUTOPSIA.

L'autopsia venne da me praticata 24 ore dopo la morte, mentre il cadavere, atteso il rigore della stagione, era benissimo conservato.

Il medesimo presentavasi in uno stato di avanzatissima emaciazione. Il pannicolo adiposo completamente scomparso, le masse muscolari assai ridotte di volume, tanto che il peso del corpo era di 24 Kgr. e 400. Statura m. 1,55. Lo scheletro era regolarmente conformato. Rigidità scomparsa.

La cute aveva un colorito generalmente bronzino, più intenso in corrispondenza degli arti inferiori, del collo, e delle regioni dorsali del tronco, che non al volto ed al torace. Sopra questo fondo bronzino apparivano delle chiazze di colorito biancastro, in corrispondenza delle quali la cute, oltre al non presentare pigmento, era molto assottigliata, e mostrava una superficie liscia, levigata. Queste chiazze avevano una configurazione rotondeggiante o poligonale, e rappresentavano la

distribuzione di una pregressa eruzione bollosa. Erano sparse irregolarmente sia alla superficie del torace, sia agli arti, mostravansi discretamente confluenti, e la grandezza loro variava dalla circonferenza di una moneta di un centesimo a quella di cinque franchi.

La cute in generale appariva sottile, asciutta, e l'epidermide, mentre in alcuni tratti si distaccava in sottili squamette, in altri presentava delle squame più grandi, più dense, opache, cementate fra loro da un essudato concretizzato, in guisa da pigliare l'aspetto di una specie di crosta facilmente rimovibile. Asportate queste si vedeva al di sotto lo strato del Malpighi, bianco, lucente. In alcuni punti, come alla superficie antero interna della gamba destra, le croste erano più dense, di colorito grigio scuro, e sollevate queste lasciavano vedere un accumulo di essudato siero purulento che ricopriva il reticolo Malpighiano od il derma. Senza dubbio queste croste di forma talora rotondeggiante e di varia grandezza rappresentavano una eruzione bollosa più recente; le croste maggiori risultavano dalla fusione di parecchie bolle confluenti. In corrispondenza della sura destra notavasi una vasta ulcerazione a tutto spessore della cute, a forma irregolare col fondo grigiastro, necrotico, limitato dai muscoli gemelli, e coi margini frastagliati, in parte distaccati, e non infiltrati. Altre ulcerazioni della cute, prodotte da decubito, notavansi al calcagno destro, alla regione trocanterica d'ambo i lati, al sacro, ed in corrispondenza dell'epitroclea destra. Le unghie facevano quasi completamente difetto, tanto alle mani quanto ai piedi; i residui di esse apparivano ispessiti, opacati, brunastri e friabili. La cornea in ambo gli occhi era in gran parte opacata ed ispessita; quella del lato sinistro presentava nel centro un'ulcera profonda a margini e fondo necrotici.

Cranio. — La calotta cranica regolarmente conformata, a o brachicefalico, mostrava delle chiazze di atrofia della di- e in corrispondenza della sede ordinaria delle granulazioni l Pacchioni. Sul tavolato interno, lungo il solco principale lle arterie meningee mediane, esistevano delle masse osteo-

fitiche. La dura madre presentava un leggiero ispessimento ed opacamento in corrispondenza dell'arteria meningea media d'ambo i lati. Un piccolo osteoma della grandezza di un pisello fu trovato verso la parte anteriore della grande falce della dura. L'aracnoide e la pia madre erano alquanto opacate, e negli spazi subaracnoidei esisteva una piccola quantità di siero trasparente. Nulla di anormale nel circolo di Willis e nelle sue diramazioni. Le circomvoluzioni apparivano alquanto atrofiche e più consistenti del normale. La cavità dei ventricoli laterali era aumentata, l'ependima appariva leggermente granuloso e presentava i suoi vasi un po' ectasici. Le due sostanze del cervello erano povere di sangue.

Torace. — Masse muscolari considerevolmente atrofiche, friabili, anemiche. Regolare il tipo della cassa toracica. Normale la disposizione generale dei visceri nella cavità toracica. Il diaframma aveva la sua massima altezza a livello della 4ª costa da ambo i lati, per essere lo stomaco ed il colon molto distesi da gaz, ed i polmoni in gran parte atrofici ed enfisematosi. Il cuore contratto, atrofico bruno, presentava scarso il grasso sottepicardico, e verso la punta questo grasso aveva subita la metamorfosi gelatinosa. Le arterie coronarie erano sclerosate. Nulla di abnorme esisteva nelle valvole e negli orifizi cardiaci. L'aorta presentava sull'intima delle placche d'ispessimento di colorito giallognolo.

Il polmone destro atrofico, enfisematoso verso il suo margine anteriore, presentava nello spessore del lobo medio parecchi focolai di bronco pneumonite indurativa, all'intorno dei quali il parenchima appariva più bruno. Verso la base esisteva un leggiero grado di edema. Albero bronchiale atrofico. Ghiandole peribronchiali sclerosate e pigmentate. Il polmone sinistro era aderente quasi in totalità, in gran parte atelettasico, presentava verso la base delle emorragie sottopleuriche recenti.

Addome. — Milza ridotta di volume, capsula trasparente, scarsa la polpa e poco ricca di sangue, visibili distintamente le trabecole connettive.

La capsula surrenale destra era di volume normale, ma più

consistente della norma e pigmentata. Il rene sinistro di volume normale più consistente del solito, presentava le due sostanze non più nettamente differenziate; in qualche piramide scorgevansi delle striature giallognole dirette dalla base verso l'apice delle papille (infarti urici), il bacinetto era alquanto dilatato e la mucosa iniettata di sangue.

Nel rene destro il reperto era identico, nel bacinetto però esisteva un piccolo calcolo di urati e la mucosa era ricoperta da urina commista ad un essudato siero purulento. Le arterie di ambo i reni erano manifestamente sclerosate. La vescica era distesa da urina torbida, densa e fetida; le fibre muscolari in gran parte iperplasiche mantenevano fra le maglie da loro delimitate dell'urina molto torbida per presenza di urati e di muco-pus; in qualche punto verso il trigono la mucosa presentava delle aree circoscritte giallognole, di forma irregolare, non rilevate, dovute a necrosi. Nell'uretra nulla di anormale. La prostata era di volume normale, ma più consistente del solito. Nulla di anormale negli organi genitali.

L'intestino tenue mostrava in tutta la sua estensione le tonache atrofiche e pallide. L'apparato follicolare intraintestinale e le ghiandole mesenteriche erano parimenti atrofici. La mucosa del duodeno appariva piuttosto tumida e ricoperta da un'abbondante quantità di muco giallognolo. La papilla del coledoco era pervia. Lo stomaco di volume piccolo, presentava la mucosa ispessita e mammellonata verso la regione pilorica, mentre verso il fondo cieco era atrofica. Atrofici e consistenti il pancreas ed il ganglio celiaco. Fegato atrofico, bruno, presentava nella cistifellea dilatata, oltre a poca bile densa e filante, quattro calcoli bruni, moriformi, uno dei quali raggiungeva il volume di una noce. Nell'intestino crasso la mucosa era in gran parte atrofica e qua e là iniettata di sangue. ell'esofago nulla di abnorme. La lingua corrugata, presenva verso l'apice una rilevatezza non bene circoscritta, a surficie ineguale, priva di epitelio ed in gran parte ulcerata, consistenza maggiore di quella del tessuto circostante. I argini di questa ulcerazione erano irregolari e d'aspetto

coriaceo. La base della lingua e la mucosa boccale erano normali.

Nella costituzione dello scheletro nulla notavasi di abnorme, salvo un leggiero grado di atrofia eccentrica delle ossa lunghe. La cavità midollare era ampia, e conteneva un midollo rosso, gelatinoso.

Alcuni dei nervi periferici, macroscopicamente considerati, apparivano qua e là più voluminosi e più consistenti del normale, tali ad esempio il nervo muscolo cutaneo del braccio d'ambo i lati, il nervo cubitale d'ambo i lati, i nervi dorsali ed i crurali. Il vago d'ambo i lati era per gran parte della sua estensione ingrossato ed indurito. Anche il gran simpatico trovavasi in simili condizioni, e presentava i suoi gangli voluminosi e duri. I gangli intervertebrali parimenti erano molto grossi e duri.

Nel midollo spinale l'esame macroscopico a fresco lasciava rilevare come i cordoni di Goll e i fasci del Burdach e le zone radicolari posteriori per gran tratto della regione cervicale e per tutta la porzione dorsale del midollo fossero in preda alla degenerazione grigia. Il disegno della sostanza grigia non mostrava di essere alterato nella parte anteriore, laddove nella metà posteriore si confondeva coi cordoni posteriori sclerosati. Nulla di abnorme nella dura madre spinale.

REPERTO ISTOLOGICO.

Cute e sue appendici. — Pezzetti di cute tolti dalle varie parti del corpo, come dal torace, dal collo, dalla regione dorsale del tronco, dalla parete addominale, dalle natiche, dagli arti, dalle mani e dai piedi vennero induriti successivamente nel liquido di Müller e nell'alcool. Le sezioni eseguite col microtomo in direzione normale alla superficie, previa impregnazione in paraffina od in celloidina vennero colorite con diversi metodi.

Le alterazioni mostrano d'interessare tutti gli strati della cute, oltre alle sue appendici (unghie e peli) ai filamenti ner-

vosi, alle fibre muscolari, ai vasi ed agli organi ghiandolari della medesima. Tali alterazioni consistono in parte in metamorfosi regressive ed in parte in modificazioni di natura infiammatoria e si manifestano più o meno spiccatamente a seconda delle località. In generale si nota che lo strato corneo dell'epidermide è più spesso, e le lamelle che lo compongono tendono ad allontanarsi le une dalle altre senza però deviare dalla loro direzione ondulata parallela. Le più profonde rimangono aderenti al reticolo Malpighiano. Lo strato lucido e lo strato granuloso di Langerhans non sono più distinguibili in alcuno dei molti saggi di cute esaminati. Il reticolo Malpighiano si presenta molto sottile e gli zaffi interpapillari, considerevolmente ridotti di spessore, constano di due o tre strati di cellule, hanno perduto la loro forma conica, sono assai brevi, e colle loro estremità tendono ad anastomizzarsi, chiudendo degli spazi rotondeggianti in cui trovasi il derma molto atrofico. Lo spessore dello strato Malpighiano in alcuni punti misura un minimum di μ 10. L'altezza massima degli zaffi epiteliali interpapillari è di 180 μ. La larghezza dei singoli zaffi epiteliali varia da μ 10 a μ 30. Gli elementi cellulari che compongono il reticolo Malpighiano sono considerevolmente atrofici, hanno perduto la loro forma poligonale e le loro appendici cigliate; misurano un diametro di 6-8 μ; il protoplasma è scarsissimo, ed i nuclei sono piccoli, ovali ma ancora bene tingibili. In qualche tratto, ove per l'allontanamento dello strato corneo il corpo mucoso è allo scoperto, si nota come le cellule di questo sono anche più appiattite, a contorni non bene netti ed a nucleo non facilmente distinguibile.

Le papille del derma in genere sono poco rilevate ed il tessuto che le costituisce è povero di elementi cellulari i quali stanno disseminati in una sostanza fondamentale d'aspetto ta-
[illegible]a fibrillare e talora granuloso, specialmente in alcuni tratti [illegible] il tessuto è in via di disgregazione. Tale disgregazione [illegible] effetto di un processo di necrobiosi che si manifesta qua [illegible] nelle papille dermiche e che deve attribuirsi all'invasione [illegible] parassita nel derma stesso. In quei tratti ove questa ne-

crobiosi si verifica lo strato mucoso insieme alla parte più alta delle papille si distacca dagli strati più profondi del derma, per cui si produce uno spazio (Vedi fig. 1ª *B*) che viene riempito da un liquido siero albuminoso e così si forma una vescicola più o meno grande. Intanto quel tratto di corpo mucoso che insieme a porzione di derma limita esternamente la vescicola finisce coll'andare in necrobiosi e si essica sotto forma di una crosta. Tutto all'intorno di queste vescicole il tessuto del derma non presenta alcun elemento cellulare, e la sostanza fondamentale è granulosa. In grembo alle papille del derma ed anche nelle parti più profonde esistono qua e là dei piccoli ammassi di pigmento giallo-brunastro. I vasellini del derma sono sclerosati; scarsissimi sono quelli che veggonsi penetrare nelle papille, e quasi tutti sono circondati da un tessuto in preda ad infiltrazione parvicellulare. Le arterie più profonde del derma sono anch'esse sclerosate.

I gomitoli sudoriferi appariscono raggrinzati per la riduzione di calibro o per la parziale scomparsa dei tubuli ghiandolari che li costituiscono; nei singoli tubuli notasi un'intensa proliferazione delle cellule fisse costituenti la membrana di basamento, mentre gli elementi epiteliali sono in parte scomparsi ed in parte talmente atrofici da non distinguersi dagli elementi connettivi vicini. Il connettivo peritubulare è anch'esso in stato di attiva proliferazione, specialmente in quei tratti ove l'atrofia dei tubi ghiandolari è più intensa, come in corrispondenza del polpastrello delle dita.

Anche le ghiandole sebacee e le guaine pilifere sono in stato di avanzatissima atrofia.

Le unghie fanno quasi generalmente difetto; in alcune dita non rimane che la parte posteriore dell'unghia, quel tratto cioè che sta aderente alla matrice. Il tessuto corneo proprio dell'unghia presenta le lamelle superficiali in stato di frammentazione e di esfogliazione, mentre le lamelle centrali sono più ravvicinate e disposte concentricamente. Lo strato germinale dell'unghia in talune dita è ancora conservato; i suoi elementi però sono atrofici. La saccoccia ungueale è poco pro-

fonda e limitata da un sottile strato Malpighiano. Il letto dell'unghia presenta qua e là scarse papille solamente in quel tratto in cui l'unghia è conservata, mentre nella porzione sua anteriore, ove l'unghia manca si scorge il derma in stato di necrobiosi.

Nervi della cute. — I sottili troncolini nervosi che decorrono nello spessore del derma si presentano all'esame sia in sezione longitudinale sia in sezione ottica. In tutti notasi un ispessimento delle guaine di Henle, ed un aumento dei nuclei nel connettivo peri ed intrafascicolare; i tubi nervosi presentano qua e là delle varicosità nel cilindro dell'asse e nella guaina mielinica, ed in qualche punto non è più possibile riconoscerne la struttura. Nel connettivo lasso che circonda i troncolini maggiori si notano dei capillari sanguigni ectasici e ripieni di globuli rossi. Si ha quindi il reperto istologico di una neurite multipla cronica (Fig. 1 *D*). Anche i corpuscoli del Pacini presentano nelle loro lamelle e nel connettivo che li circonda una considerevole proliferazione nucleare; le lamelle sono allontanate le une dalle altre e non si riconosce alcuna trabecola trasversale che riunisca le lamelle fra di loro. La clava centrale e la fibra terminale non sono più riconoscibili.

Nervi periferici maggiori. — Ho esteso il mio esame a parecchi paia di nervi cervicali e dorsali, ai nervi crurali d'ambo i lati, ai rami terminali ed al tronco principale del n. ischiatico, ai rami del plesso brachiale, al vago ed al gran simpatico. Nei nervi cervico dorsali e crurali, oltre che nel nervo muscolo cutaneo del braccio constatai le maggiori alterazioni. Quasi tutti mostravano l'epi- il peri- e l'endo-neurio più o meno ispessito e sparso di giovani elementi cellulari. Le lamelle dell'epineurio qua e là non erano più individualizzate e presentavano numerosi giovani elementi originatisi in parte dalle cellule fisse del connettivo ed in parte dagli elementi endoteliali onde le singole lamelle sono rivestite. Anche i setti che costituiscono il connettivo intrafascicolare apparivano aumentati di spessore e ricchi di nuclei giovani (Vedi Fig. 3). I tubi nervosi qua e là erano profondamente degenerati, va-

ricosi o mancanti. In taluni dei nervi più intensamente alterati i pochi tubi nervosi che ancora rimanevano erano disseminati in mezzo a delle masse di connettivo, in cui trovavasi qua e là qualche blocchetto di pigmento giallo brunastro. Nel vago le alterazioni erano minori.

Nel gran simpatico, il quale già macroscopicamente appariva ingrossato ed indurito in tutta la sua estensione, notai un ispessimento del connettivo peri- ed intrafascicolare con atrofia e degenerazione di molte fibre nervose e deposizione di granuli di pigmento. Le cellule ganglionari che trovavansi qua e là disseminate lungo il simpatico erano deformate per un forte raggrinzamento dovuto a riduzione del protoplasma; i loro nuclei però erano ancora evidenti e attorno ad essi, in molte cellule, stavano accumulati dei granuli di pigmento. Anche i gangli del simpatico erano in preda ad una più o meno avanzata atrofia sclerotica.

Dei nervi sensoriali specifici l'ottico soltanto ha formato oggetto della mia osservazione. In esso la guaina connettiva e la neuroglia che forma il sostegno dei tubi nervosi risultarono ispessite, i tubi nervosi e la papilla del nervo apparivano atrofici.

Terminazioni nervose. — Oltre alle terminazioni dei nervi nello spessore del derma, presi a studiare in questo caso le terminazioni nervose nei muscoli striati. Mi giovai del metodo di Lövit al cloruro d'oro ed all'acido formico, e studiai i muscoli motori del globo oculare, gl'intercostali ed i muscoli surali. Nei preparati meglio riusciti potei notare come le placche terminali fossero in molti punti ancora bene ravvisabili ad onta della profonda degenerazione dei fascetti muscolari in cui si trovavano. L'arborizzazione terminale delle placche, era però molto esigua ed i rami molto sottili e d'aspetto granuloso.

Midollo spinale. — Numerose sezioni, praticate a tutte le altezze del midollo spinale, rilevarono come il medesimo fosse sede di profonde alterazioni tanto nella sua sostanza bianca quanto nella grigia. La dura madre spinale e le pie mening

apparivano quasi integre. Lungo tutta la porzione cervicale e dorsale del midollo l'esame istologico, fatto trattando le sezioni sia col metodo di Pal, sia col metodo di Adamkievicz, o col carminio neutro Bizzozero, fece osservare un avanzato grado di degenerazione e di sclerosi nel dominio dei cordoni posteriori. Le fibre nervose nei fasci di Burdach e di Goll erano quasi totalmente scomparse, mentre quelle poche che rimanevano presentavano la guaina mielinica rigonfiata ed il cilindro assile non era più riconoscibile. La neuroglia appariva ricca di nuclei disseminati in una sostanza fondamentale finamente granulosa (Vedi Fig. 2). I vasi sanguigni erano in stato di sclerosi. La zona radicolare posteriore ed il corno grigio posteriore partecipavano alla sclerosi, specialmente nella porzione dorsale superiore e media. Nella porzione cervicale invece, e precisamente a livello del 2° e 3° paio di nervi cervicali, la degenerazione e la sclerosi oltre che ai fasci di Goll e di Burdach si estendeva per discreto tratto alla zona radicolare anteriore e ai cordoni di Türck ed alle fibre della commessura bianca. Il fascio cerebellare non mostrava alterazioni. Lo stesso dicasi del fascio piramidale crociato. La sostanza grigia in tutto il midollo cervicale e dorsale presentava poco evidenti le sue fibrille; le cellule ganglionari delle corna anteriori apparivano atrofiche soltanto nella porzione cervicale superiore. Il canale centrale mostravasi qua e là ostruito da un accumulo di cellule dell'ependima distaccatesi e disposte senz'ordine.

Gangli intervertebrali. — I gangli invertebrali erano sede di un'attivissima proliferazione connettivale a danno delle cellule ganglionari, le quali erano scarsissime e molto atrofiche. Anche le radici posteriori del midollo erano in preda a degenerazione ed a sclerosi.

Bulbo oculare. — Un bulbo oculare col rispettivo nervo ot-
, è stato sezionato in direzione sagittale comprendendovi
che il nervo e la sua papilla, previo indurimento in liquido
ller ed alcool e previa impregnazione nella celloidina.
Verso la parte superiore della sua circonferenza, la cornea

presentava una profonda ulcerazione del diametro di circa un paio di millimetri, i cui margini apparivano notevolmente ispessiti in parte per intensa proliferazione dell'epitelio, ed in parte per infiltrazione di elementi giovani tra le lamelle corneali. Il fondo dell'utero era costituito dalle lamelle più profonde rammollite e dall'iride aderente; la membrana di Deschemet in quel punto di aderenza era confusa col tessuto dell'iride. L'iride ed i corpi cigliari atrofici presentavano nel loro spessore numerosi nuclei di cellule fisse oltre a delle cellule semoventi. La coroidea presentava integro il suo epitelio, nelle sue maglie però scorgevasi qua e là una leggiera infiltrazione parvicellulare. La retina in gran parte distaccata non lasciava più colorire lo strato dei coni e dei bastoncini, nè quello delle cellule ganglionari, ma soltanto gli strati granulosi.

Lingua. — Le sezioni furono condotte perpendicolarmente alla superficie dell'organo, in direzione sagittale. Quelle che comprendono la porzione dell'apice che è sede dell'ulcerazione già notata lasciano scorgere come la perdita di sostanza si approfondì fino nella sostanza muscolare. Quella parte di mucosa e di sostanza muscolare che sta attorno all'ulcera è infiltrata di giovani elementi; l'epitelio che sta sul limite dei margini dell'ulcera ha le sue cellule in via di cheratificazione. Le fibre muscolari della lingua sono molto sottili, ed hanno un gran numero di nuclei nel sarcolemma e nel connettivo interfascicolare il quale è ispessito. Conservano però ancora la striatura trasversale.

Muscoli striati. — Anche i muscoli striati erano considerevolmente atrofici. Le fibre muscolari apparivano molto esili, e circondate da un connettivo molto denso e ricco di nuclei. Anche i nuclei del sarcolemma erano in stato di proliferazione. Le arteriole intrammuscolari erano sclerosate.

Ghiandole linfatiche. — In generale si presentavano rimpicciolite ed indurite. La sostanza follicolare, al pari dei cordoni midollari in tutte le ghiandole esaminate era atrofica, mentre il connettivo che forma lo stroma di sostegno ed il connettivo perighiandolare era notevolmente ispessito.

Midollo delle ossa. — Nelle ossa lunghe esaminate (omero, femore) il midollo era scarso, rosso ed in preda alla metamorfosi gelatinosa. I preparati fatti a fresco disgregando dei piccoli frammenti di tale midollo nella soluzione fisiologica di cloruro di sodio dimostrarono la presenza di cellule connettive ramificate, e di scarsissimi elementi midollari accanto a cellule pigmentifere e globulifere.

Reni e capsule surrenali. — Nella sostanza corticale che è molto assottigliata, si potè notare come il connettivo che circonda i canalicoli, i glomeruli ed i vasi interlobulari era in stato di proliferazione mostrandosi infiltrato di numerosi nuclei giovani. I glomeruli apparivano raggrinzati, le anse vascolari erano diventate in parte impervie e prive di nuclei; l'epitelio del glomerulo, proliferato e desquamato, la capsula qua e là ispessita. L'epitelio dei canalicoli contorti e delle anse di Henle era atrofico; qua e là si scorgevano dei canalicoli privi di epitelio ed afflosciati. Anche nella sostanza midollare si nòtò la proliferazione del connettivo interstiziale, con atrofia degli epitelii. Si aveva quindi il reperto di un indurimento infiammatorio con atrofia del tessuto renale.

Le sezioni perpendicolari condotte a tutto spessore sulle capsule surrenali, dimostrarono come la sostanza corticale era considerevolmente ispessita, e che nella medesima non era più possibile distinguere la normale disposizione nei tre noti strati. I singoli elementi cellulari non presentavano alcuna differenza di forma a seconda della loro posizione rispetto allo spessore della corteccia, tutti avevano una forma ovalare, senza prolungamenti, e verso la parte centrale non erano disposte ad alveoli. La sostanza midollare era rammollita e disgregata.

Polmoni. — In mezzo ad un parenchima considerevolmente atrofico si notarono dei focolai di bronco pneumonite indurata, caratterizzati essenzialmente da un collasso degli alveoli, infiltrazione di giovani cellule nel connettivo dei setti eralveolari, nel connettivo periacinoso, peribronchiale e peascolare.

egato e milza. — Erano in stato di avanzata atrofia.

REPERTO MICOLOGICO.

Presso che in tutti gli organi alterati, ma specialmente nella cute, nel connettivo sottocutaneo, nella cornea, nei nervi, nelle zone di degenerazione del midollo spinale e nel connettivo interstiziale dei reni rinvenni la presenza di sottili micelii ramificati, a vario periodo di sviluppo e di gonidii sparsi irregolarmente in mezzo ai micelii. Il numero e la distribuzione dei parassiti variava a seconda delle località.

I micelii in genere erano molto sottili; il loro diametro variava da μ 1 $^1/_2$ a μ 2 $^1/_2$. Taluni di essi erano molto lunghi, leggermente ondulati, e presentavano delle lunghe ramificazioni le quali si staccavano ad angolo acuto dal corpo del micelio; altri invece erano più brevi e più tozzi, misurando anche uno spessore di μ 3. Esaminati in preparati non colorati, per studiare l'immagine di struttura, si poteva riconoscere come i micelii fossero septati trasversalmente ed i singoli segmenti che ne risultavano apparivano talora circondati da un doppio contorno. Il loro contenuto era appena leggermente granuloso, e non di rado si scorgeva nell'interno di questi segmenti un corpicciolo ovale, cioè un gonidio. Trattati colle soluzioni iodiche i micelî rimanevano incolori; si colorivano invece intensamente coi colori basici d'anilina e resistevano al trattamento col metodo di Gram. I micelii più lunghi presentavano un numero minore di ramificazioni, non contenevano gonidii nel loro interno, assumevano male le sostanze coloranti ed apparivano più granulosi. Evidentemente si trattava di micelii in via di degenerazione e di disfacimento.

I gonidii erano rotondi o leggermente ovali, il loro diametro superava di poco lo spessore dei micelii; misuravano infatti μ 3 (micro gonidii). Taluno di essi presentava un doppio contorno; tutti assumevano intensamente i colori basici di anilina, mentre malamente si colorivano coi varii carminii. Non di rado si scorgeva come una parte di essi si originasse dalla scissione diretta di qualche micelio, il quale perciò veniva ad as-

sumere l'aspetto di una coroncina; altri derivavano dalle parti laterali del micelio a guisa di gemmazioni, ed altri infine si originavano dall'estremità di un micelio isolatamente, per cui questo nella sua porzione terminale aveva l'aspetto di un bottone o di una clava. Nel connettivo sottocutaneo si vedevano spesso degli ammassi di microgonidii in mezzo a dei corti micelii; non mi fu però mai dato di scorgere delle formazioni simili alle cellule di fermento, come si osservano nei preparati di mughetto, od in quelli di oidium albicans.

Quanto alla distribuzione del fungo nelle varie parti ammalate io noterò brevemente come nella cute rinvenni micelii a vario periodo di sviluppo, sia fra le lamelle dello strato corneo, sia nello spessore della rete di Malpighi, fra le cellule che compongono detta rete, ossia nei canalicoli plasmatici dell'epitelio cutaneo. Nelle papille del derma, nel tessuto connettivo necrobiotico che sta intorno alle vescicole di penfigo e nel liquido siero albuminoso contenuto nelle medesime la quantità dei micelii ramificati era spesso molto considerevole. Alla presenza del parassita è senza dubbio legata la necrobiosi del derma, il distacco della rete Malpighiana dal derma in alcuni tratti, e la caduta delle unghie. La formazione delle bolle di penfigo è quindi da attribuirsi al trichophyton (Vedi Fig. 1ª). Anche nel connettivo perivascolare ed in quello che sta attorno ai gomitoli sudoripari notai molti micelî e dei gonidî.

Non meno interessante era il reperto micologico dei nervi periferici. La vegetazione del fungo era molto rigogliosa nel connettivo perinervoso, ove scorgevansi ammassi di micelî e di gonidî. Anche fra le lamelle della guaina di Henle e nel connettivo intrafascicolare trovavansi dei micelî ramificati. Alcuni di questi erano granulosi e pigmentati e non assumevano facilmente i colori d'anilina. In alcuni punti si scorgevano degli ammassi di pigmento bruno, i quali verisimilmente rappresentavano dei residui del parassita. Anche nel gran simpatico e nei suoi ganglî, oltre che nei ganglî intervertebrali, esistevano numerosi micelî in mezzo al connettivo proliferato.

Nel midollo spinale la distribuzione dei micelî trovavasi più abbondante nel campo dei cordoni posteriori, ove esisteva un'avanzata degenerazione delle fibre nervose e la sclerosi. Le zone limitrofe dei cordoni laterali, come pure la sostanza grigia presentavano qua e là dei micelî. Nella porzione cervicale del midollo, oltre alla degenerazione dei cordoni posteriori, notavasi un'incipiente degenerazione dei fasci del Türck e della zona radicolare anteriore, ed in grembo a queste aree in via di degenerazione esistevano micelii.

Nella cornea notavansi micelî e gonidî non soltanto nello spessore dei margini dell'ulcera, ma ancora fra le lamelle corneali ad una certa distanza dall'ulcera, come pure al di sotto dell'epitelio e fra le cellule dell'epitelio, molte delle quali presentavano la tumefazione idropica.

Anche nella lingua, in corrispondenza del tessuto infiltrato che limitava l'ulcerazione notata verso l'apice, si notarono dei micelî lunghi e ramificati.

Nel tessuto muscolare e nei focolai broncopneumonici, come pure nel parenchima polmonare normale non rinvenni traccia del parassita.

Rinvenni invece abbondanti micelî nel connettivo interstiziale del rene.

CONSIDERAZIONI.

Come risulta dai suesposti reperti e dalle note cliniche che mi venne dato di raccogliere, si tratta qui di un quadro morboso a localizzazioni multiple, che interessano sopratutto il midollo spinale, i ganglî intervertebrali, i nervi periferici e la cute. In grembo a queste parti, che sono sede di importanti alterazioni di struttura, esiste, in stato di rigogliosa vegetazione, un ifomiceta parassita, la cui presenza, per quanto mi sappia, non è mai stata riscontrata in questi organi.

Onde la prima domanda che s'impone al patologo ricercatore dinanzi ad un simile caso si è se il fungo rinvenuto nelle parti ammalate debba essere considerato come la vera ed unica

causa di tutte le alterazioni, o se soltanto di alcuna di esse; o se pure l'invasione del microfita abbia avuto luogo in parti già alterate nella nutrizione od ammalate ed abbia contribuito a creare delle nuove manifestazioni o ad aggravare le condizioni morbose che già preesistevano. Tale domanda è giustificata soprattutto dalla scarsità delle attuali nostre conoscenze sulla biologia degli ifomiceti, oltre che dalla novità del reperto istomicologico in rapporto colle lesioni del caso nostro, le quali fino ad ora non furono dai patologi considerate di natura parassitaria.

La risposta nella quale debbono compendiarsi i criteri per valutare l'importanza patogenica del fungo sarebbe evidentemente stata facilitata ove i tentativi da me fatti sul cadavere per isolarlo in coltura pura avessero dato il risultato desiderato. Ma disgraziatamente nelle croste e negli essudati sotto le croste il fungo era mescolato ad altri microfiti che presero il sopravvento. Tuttavia, siccome si tratta di un fungo la cui specie può essere determinata anche dallo studio delle vegetazioni nell'interno dei tessuti animali, per i suoi caratteri morfologici e poichè non possiede organi speciali di fruttificazione, neppure sui terreni artificiali di nutrizione, il giudizio può essere dato anche in base al reperto istologico e micologico dei tessuti ammalati ed ai risultati degli esperimenti intrapresi colla stessa specie di fungo isolata da un'altra fonte.

Sembra pertanto doversi ritenere che alcune delle lesioni, quali quelle del derma, dell'epidermide, della cornea, e dei nervi periferici siano legate alla presenza del parassita, mentre dei dubbi rimangono circa l'origine della lesione spinale, poichè da un lato i disturbi spinali, come risulta dalla storia clinica, avrebbero preceduto per lungo tempo la dermopatia l'altro lato mancherebbe la dimostrazione della porta d'in-sso del fungo e della via per la quale è giunto al midollo nale in primo tempo.

Ritengo pertanto più verisimile l'ammettere che primitiva-nte si sia iniziata la degenerazione dei cordoni posteriori

e che tale disturbo di nutrizione, associandosi anche a disturbi trofici nei ganglî intervertebrali, abbia favorito la penetrazione e la moltiplicazione del fungo nei cordoni posteriori del midollo spinale e nei suoi centri trofici, aggravando la condizione morbosa, facilitando cioè l'estendersi della degenerazione delle fibre nervose e la proliferazione della neuroglia. La polineurite, come risulta dal reperto istologico, è di data assai più recente, è in stretto rapporto colla dermopatia ed è causata dall'invasione del fungo. I nervi in presenza del parassita hanno reagito degenerando e presentando la proliferazione del connettivo. Ed ove si voglia ammettere che tali nervi fossero già disposti ad ammalare stante la morbosa condizione del midollo spinale, si può anche ritenere che a sua volta tale stato morboso dei nervi abbia contribuito a diminuire la resistenza delle parti periferiche cioè della cute, di fronte al parassita, modificando la nutrizione di dette parti; per cui si può credere che si sia stabilito un circolo vizioso tra causa ed effetti, cosa che del resto non è rara in Patologia.

La dermopatia infine mostrò di progredire di pari passo colla polineurite, essa è legata intimamente alla presenza del parassita, alla cui vegetazione si deve la necrobiosi del derma e la comparsa delle manifestazioni penfigoidi. Non è però improbabile che l'azione patogena del fungo sia favorita dalle modificate condizioni nutriziė della cute.

Cronologicamente parlando, adunque, nel caso nostro avrebbe preceduta la degenerazione dei cordoni posteriori del midollo spinale, alla quale si sarebbe in seguito associata la dermopatia e la polineurite di origine parassitaria. Se anche la tabe dorsale sia da considerarsi come determinata dal tricophyton è dubbio; tuttavia dobbiamo registrare il fatto che il nostro paziente pel suo mestiere di avvicinare continuamente cavalli e buoi era in condizioni di ammalare più facilmente di tricofitiasi.

Ad avvalorare questo mio giudizio sui rapporti che esistono fra le varie localizzazioni morbose nel nostro caso, e sull'importanza patogenetica del fungo contribuiscono le conoscenze

che oggidi si sono andate meglio assicurando sulle proprietà biologiche dei microparassiti, specialmente per ciò che riguarda il modo di penetrare, di diffondersi e di agire dei medesimi nei tessuti animali. È noto invero, come modificando le condizioni di vita di un tessuto animale si può creare un mezzo più o meno favorevole alla vegetazione dei fitoparassiti e si può esaltare o diminuire la potenza patogena dei medesimi. Allo stesso modo che nell'organismo dei diabetici gli stafilococchi piogeni agiscono più attivamente, producendo degli estesi processi necrotico suppurativi, ed allo stesso modo che l'organismo del coniglio e del topo cessa di essere refrattario all'azione del carbonchio sintomatico quando si faccia l'innesto in una località ove si sia fatta precedere un'iniezione di acido lattico, o si sia praticata una contusione, si può spiegare come nel nostro paziente per le modificate condizioni del sistema nervoso si sia verificata un'invasione generale del connettivo di un fungo il quale d'ordinario non produce che delle alterazioni locali, piuttosto limitate.

La porta d'ingresso del parassita pertanto nel caso nostro sarebbe la cute medesima, la quale, trovandosi in condizioni distrofiche, si è resa più permeabile al parassita, ed, in luogo di reagire, come di solito, al contatto di questo, è andata incontro alla necrobiosi del derma disponendosi alla formazione delle bolle penfigoidi.

Questa conclusione è appoggiata al reperto istologico e micologico che dimostra l'esistenza di micelî e di gonidî non solo alla superficie dell'epidermide e tra le squame cornee della medesima, ma ancora tra gli elementi del reticolo malpighiano ed in grembo alle papille del derma. In queste ultime il tessuto va a poco a poco mortificandosi e disgregandosi per dar luogo alla formazione di bolle più o meno grandi. Nel tessuto che limita immediatamente queste bolle si riscontrano qua e là degli abbondanti ammassi di micelî ramificati; onde rimane l'impressione che la presenza del fungo sia la causa della formazione delle bolle, la cui produzione anzichè aver luogo, come di solito, per una tumefazione idropica delle

cellule del reticolo malpighiano, ha luogo per necrobiosi del derma.

Altre quistioni che si potrebbero fare nel caso presente riguardano il parassita e la sua biologia.

Abbiamo noi veramente a che fare col fungo dell'Herpes, o piuttosto con qualche altro ifomiceta che al pari di questo è privo di speciali organi di fruttificazione, o che non sporifica in grembo ai tessuti animali?

La quistione sarebbe stata con maggior sicurezza risolta ove i tentativi di coltura intrapresi sul cadavere cogli essudati, raccolti al di sotto delle croste, avessero sortito un soddisfacente risultato. Dovendo giovarmi solamente del reperto micologico dei tessuti e degli essudati, mi rimaneva il dubbio che là potessero mancare speciali organi della fruttificazione, che valgono a caratterizzare alcune specie di ifomiceti. Tuttavia un attento esame comparativo tra le forme rinvenute nel caso nostro e forme congeneri potè farmi rilevare i caratteri necessarî alla determinazione della specie del fungo.

La configurazione dei micelî del nostro fungo, rispetto a quella di micelî di altri parassiti che posseggono speciali organi di riproduzione, la disposizione dei gonidî ed il loro modo di prodursi, oltre al modo di reagire delle parti infette, valsero a farmi acquistare la convinzione che il fungo che avevamo dinanzi dovesse essere quello dell'Herpes. Infatti la sottigliezza del micelio, l'aspetto septato del medesimo, la presenza frequente di un nucleo nei singoli segmenti, la mancanza di vere stilospore, e la produzione dei gonidî ad ammassi, per divisione dei micelî lasciavano concludere che si avesse a che fare con una delle forme di ifomiceti che fruttificano nei tessuti animali, senza presentare degli speciali organi di fruttificazione. Attesa la mancanza di lunghe catene di spore verso l'estremità libera dei micelî, attesa la mancanza di elementi simili alle cellule dei fermenti, e la nessuna colorabilità col jodio, si può ritenere che questo fungo si differenzi anche dagli ifomiceti più semplici come da quello del favo e del mughetto, oltre che da altre specie congeneri de-

scritte recentemente da Unna, il quale vorrebbe botanicamente raggrupparle al genere *cladosporium*. Anche il modo di reagire dei tessuti invasi dal parassita e l'andamento clinico del morbo parlano più a favore del trichophyton che di qualsiasi altro ifomiceta patogeno, così ad esempio l'infiltrazione parvicellulare intorno agli ammassi del parassita, l'ispessimento dei margini delle ulceri corneali dovuto in parte a deposizione di pseudospore, l'ispessimento e la friabilità delle unghie.

Se si tiene conto della rigogliosa vegetazione del fungo nelle papille del derma, nel connettivo perivascolare e perinervoso, e nella neuroglia del midollo spinale, si è autorizzati ad ammettere che il Trichophyton in determinate circostanze può produrre delle infezioni profonde del tessuto connettivo, e che anche se modifica in parte qualcuna delle sue proprietà biologiche, come si verifica in alcuni parassiti in stato di simbiosi, non compromette la sua dignità patogena per il solo fatto che si è diffuso profondamente.

Se si volesse giudicare del modo di agire di questo parassita in base al reperto istomicologico si potrebbe dire che, trovandosi il medesimo in quantità così abbondante nei tessuti patologici, agisce forse più meccanicamente che non chimicamente.

Quanto alla presenza di ammassi di pigmento bruno in grembo ai nervi infiammati per la presenza del parassita, tutto porta a credere che questo pigmento non sia di origine ematica, bensì provenga dall'attività metabolica del parassita.

Da queste mie osservazioni si potrebbero pertantò desumere le seguenti conclusioni:

1° Il trichophyton tonsurans non deve considerarsi esclusivamente come un epifita cutaneo, poichè è capace, in determinate circostanze, di diffondersi per le lacune linfatiche della cute e del connettivo sottocutaneo, oltrechè lunghesso le guaine linfatiche perinervose e perivascolari, destando dei processi di polineurite e di vasculite cronica proliferate.

2° Vegetando nelle papille del derma induce un processo di lenta necrobiosi del connettivo dermico, per il che avviene il distacco dell'epidermide già molto assottigliata e la formazione di un'eruzione bollosa sulla cute, mentre l'epidermide partecipa soltanto passivamente alla formazione delle bolle.

3° Alterazioni preesistenti nei centri nervosi spinali possono favorire la diffusione del parassita dalla superficie cutanea lungo i nervi, fino alle parti lese del midollo. Il parassita però non si contiene nei limiti delle porzioni di midollo ammalato, ma invade a poco a poco anche le zone circostanti, sia di sostanza bianca, sia di sostanza grigia, inducendovi atrofia degenerativa degli elementi nervosi e consecutiva proliferazione della neuroglia.

4° Probabilmente molte alterazioni della cute che si verificano nei neuropatici (tabetici) traggono la loro origine da infezioni prodotte da svariati parassiti i quali trovano nell'alterato trofismo dei tessuti le condizioni favorevoli alla loro moltiplicazione e diffusione.

Padova, 1° Gennaio 1892.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1ª. — Sezione perpendicolare di un tratto di cute dell'avambraccio destro, sede di una bolla di Penfigo: Leitz. Ocul. 2. Obiett. 3.

A, Reticolo Malpighiano considerevolmente atrofico.

B, Formazione di una bolla per necrobiosi del derma e sollevamento del reticolo Malpighiano.

CCC, Ammassi di micelî e di gonidî del trichophiton.

D, Diramazione nervosa invasa dal parassita e presentante diminuzione dei tubi nervosi accanto a proliferazione del connettivo intrafascicolare.

E, Gomitolo sudoriparo.

F, Ramuscolo arterioso sclerosato.

GG, Infiltrazione parvicellulare attorno ai vasi capillari del derma.

Fig. 2ª. — Sezione trasversale del midollo spinale a livello della regione dorsale superiore. Zeiss. Apocr. 4 mm. Ocul. compens. N. 4.

A, Cordone posteriore in preda e degenerazione e sclerosi, nel quale scorgonsi numerosi micelî.

B, Porzione della zona di Lissauer e del fascio piramidale crociato in cui il processo degenerativo è meno avanzato.

CC, Ammassi di micelî ramificati.

Fig. 3ª. — Sezione trasversa di un nervo dorsale. Zeiss. Apocr. 4 mm. Ocul. comp. 4.

A, Guaina lamellosa di Henle ispessita e ricca di nuclei.

B, Connettivo intrafascicolare in stato di proliferazione.

CC, Micelii ramificati.

Fig. 4ª. — *A*, Sezione trasversa del midollo all'altezza del 2°-3° paio di nervi cervicali. *B*, Sezione trasversa del midollo all'altezza del 8°-10° paio di nervi dorsali. } Figura schematica

Fig. 5ª. — Ammassi di micelî e di gonidî esaminati a forte ingrandimento.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 6.

Laboratorio di Patologia generale dell'Università di Parma
(Prof. G. Rattone).

CONTRIBUZIONE
ALLO
STUDIO DEL FEGATO TIFOSO
DEL

Dott. **Alfredo MORONI**
Assistente.

Come è noto, fra le varie lesioni che il fegato può presentare nel corso della febbre tifoidea, vi è pur quella consistente nella formazione di noduli speciali.

Descritti, per la prima volta, da Friedreich (*Virchow's Archiv.* XII) e da Wagner (1), nel 1860, e da essi considerati come linfomi, studiati in seguito da Hoffmann (2), i noduli tifosi ebbero varia interpretazione riguardo la loro costituzione ed il meccanesimo della loro produzione.

Siredey (3) descrisse, nel 1886, le neoformazioni nodulari come un'agglomerazione di leucociti, respingenti alla periferia le cellule epatiche.

Legry (4), nel suo lavoro sul fegato tifoso, considera i noduli siccome costituiti, in massima parte, da nuclei inglobati in una sostanza granulosa, che sembra provenire dal protoplasma disaggregato delle cellule epatiche. Senonchè, il re-

(1) Wagner, *Arch. f. Heilkunde*, 1860-61.
(2) Hoffmann, « Unters. ü. d. path. Veränd. d. Organen beim abd. Typh. », Leipzig, 1869.
(3) Siredey, « Rech. sur l'anat. path. de la f. t. », Paris 1886; e *Revue médec.*, 1886.
(4) Legry, « Contrib. à l'étud. du foie dans la f. t. », Paris, 1890.

sponso dell'esame istologico, così come venne praticato per lo passato, non basta a risolvere la quistione della genesi di questi noduli, se non si pone anche diretta attenzione al reperto micologico.

Avendo avuto l'occasione di studiare il fegato di un individuo, dell'età di diciotto anni, morto per tifo addominale in quattordicesima giornata, ho voluto rivolgere specialmente la mia attenzione sui noduli e sull'eventuale loro rapporto coi bacilli tifosi e, però, colla generale affezione, cui sono costantemente legati.

Il bacillo di Eberth (1) annida, in primo luogo, negli apparecchi linfatici dell'intestino. Di là procede a formare delle colonie nelle glandule linfatiche meseraiche e, infine, può invadere tutto l'organismo per mezzo del sistema circolatorio sanguigno arterioso, ed anco venoso (Rattone) (2).

Il fegato è attaccato direttamente dai microbi, che penetrano nel suo parenchima; può pure essere attaccato dai veleni dipendenti dalla loro attività biologica (Brieger) (3).

È intanto, già a priori, logico il ricercare un rapporto fra le lesioni epatiche ed il microrganismo della tifoide.

Disgraziatamente, la febbre tifoidea è una di quelle malattie che non si trasmettono o, per meglio dire, non si è riuscito, finora, a trasmettere agli animali, sì da riprodurre la forma morbosa propria dell'uomo, quantunque alcuni pretendano di aver ottenuto risultati positivi.

Di Vestea (4), Fränkel-Simmonds (5), Seitz (6), Tayon (7), A. Frankel (8), Kilker (9), Chantemesse e

---

(1) Eberth, *Virchow's Archiv*, 1880 e *Virchow's Archiv*, 1881.
(2) Rattone, « Arterite tifosa », Milano, 1887.
(3) Brieger, « Microbes, ptom. et malad. », Paris, 1887.
(4) Di Vestea, *Il Morgagni*, 1885.
(5) Fränkel-Simmonds, « Die ätiol. Bedeutung d. Typh. b. », 1886.
(6) Seitz, « Bact. Studien zur Typh. ätiol. », München 1886, Leipzig, 1886.
(7) Tayon, « Sur le m. de la f. t. de l'homme, culture et inoculation » (*Comptes rend.*, 1886).
(8) A. Fränkel, *Centralbl. f. Kl. Med.*, 1886.
(9) Kilker, *Arch. bohêmes de médec.*, 1887.

Vidal (1) avrebbero, coi loro esperimenti, dimostrato la possibilità della trasmissione dell'infezione tifica agli animali.

Codesti risultati sono, d'altronde, contestati da altri osservatori, quali Sirotinin (2), Beumer Peiper (3), Wolfowicz (4), Baumgarten (5). Gaffky (6), Flügge (7), Wissocowitsch (8), non ottennero mai l'infezione negli animali; Ali-Cohen (9) parla solamente di intossicazione.

Pavone (10), nel 1888, iniettando nei cani e nelle cavie i bacilli tifosi e le loro ptomaine, ha costantemente osservato la degenerazione grassa dei capillari epatici, delle cellule ed anche dei canali biliari.

Mya e Belfanti (11) ammettono, per esperienze fatte, che il bacillo del tifo può dare, in speciali circostanze, vera infezione negli animali.

Colzi (12), esperimentando negli animali colle colture di bacillo di Eberth, non potè mai ottenere lesioni nei visceri.

Legry (l. c.), che fece pure esperienze in proposito, non riuscì a produrre i noduli epatici; egli tuttavia emette l'ipotesi che i noduli stessi debbano ascriversi ad embolie microbiche, senza però averne dato la dimostrazione di fatto. Ecco come si esprime: « la migration des microorganismes dans la veine porte et dans les vaisseaux du foie, nous paraît être

---

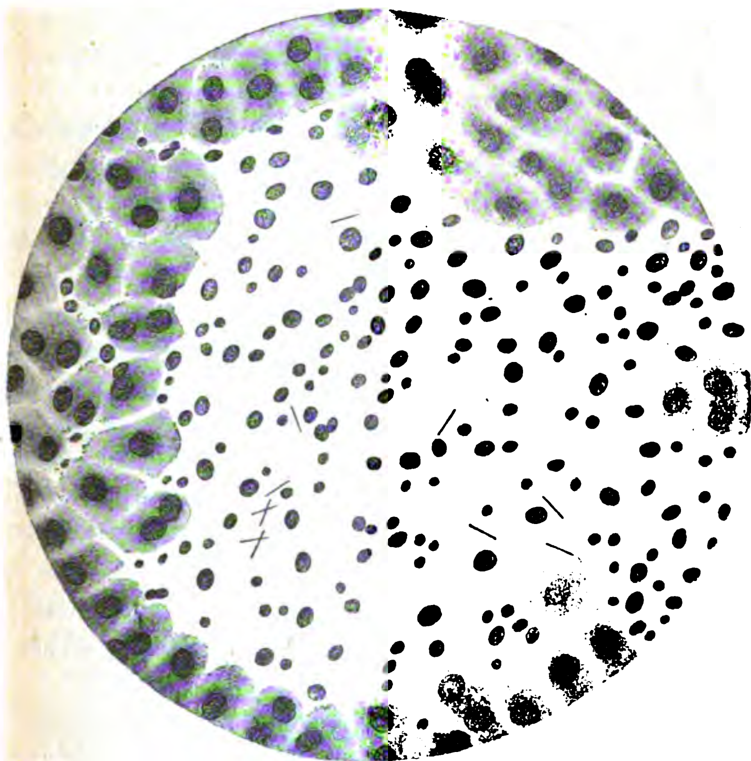
(1) Chantemesse e Vidal, *Ann. Inst. Pasteur*, 1888.
(2) Sirotinin, *Zeitschrift f. Hygiene*, 1886.
(3) Beumer-Peiper, *Zeitschrift f. Hygiene*, 1886-87; *Centralbl. f. kl. Med.*, 1886.
Beumer, *Deutsche med. Woch.*, 1887.
(4) Wolfowicz, « U. Infectionsversuche mit Typh. b. Beitrage zur path. An. herausgeg. von Ziegler und Nauwerck », 1887.
(5) Baumgarten, *Centralbl. f. kl. Med.*, 1887.
(6) Gaffky, « Mitth. a. d. Kaiserl. ges. Amt. », 1884.
(7) Flügge, « Die Mikroorganismen ».
(8) Wissocowitsch, *Zeitsch. f. Hygiene*, 1886.
(9) Ali-Cohen, « De Typh. b. Een. exp. en. Kritish onderzoek. Groningen », 1888.
(10) Pavone, « Deg. grassa acuta del fegato prodotta dal b. t. negli anim. ». Progr. m. 1888.
— *Giorn. intern. delle Scienze med.*, 1888.
(11) Mya e Belfanti, *Giorn. R. Accad. di Med.*, Torino, 1890.
(12) Colzi, « Suppurazione dovuta al b. del tifo », Firenze, 1890.

de nature à fournir l'explication de certaines altérations bien limitées du parenchyme hépatique, des nodules, p. e. Sur les coupes nombreuses, que nous avons examinées, nous n'avons pu trouver de bacilles dans ces productions ou à leur voisinage, en sorte que nous n'avons pas la démonstration du mécanisme de la lésion, mais il est permis de supposer, par analogie avec ce que l'on a observé dans d'autres maladies, qu'ils ont été la cause des désordres constatés ».

Come si sa, non si riesce a dimostrare i bacilli del tifo in ogni periodo della malattia; ciò forse spiega come il Legry non li abbia riscontrati; d'altra parte, il medesimo microparassita assorbe poco i colori d'anilina e, per l'influenza dei mezzi decoloranti, facilmente perde il colore. Lasciando le sezioni del fegato tifoso, da me studiato, circa quarantotto ore nel liquido di Loeffler, scolorandole poi con acqua e montandole in balsamo, previo rischiaramento in olio di garofani (di cui limitavo l'azione colla diretta osservazione microscopica), ho avuto la fortuna di ottenere preparati di noduli, contenenti i bacilli specifici nel loro interno. Anche all'intorno dei noduli stessi li ho potuto osservare, come pure li ho trovati sparsi ed in scarso numero in varî punti del tessuto epatico e negli spazî interlobari, attorno ai vasi.

Sotto il rapporto istologico, nulla ho da aggiungere a quanto è noto circa la forma dei noduli, la loro dimensione, il loro numero. Dirò solo che mi è occorso di riscontrare un nodo tifoso frammezzo ad un angioma cavernoso epatico. I noduli risiedono in varî punti del parenchima del fegato, nell'interno dell'acino o negli spazi interlobari. Esaminandoli attentamente, si vede che presentano varia costituzione. Quelli che trovansi nell'interno dell'acino epatico sono sempre costituiti da cellule epatiche colpite da necrosi da coagulazione (degenerazione vitrea di altri autori), che non interessa quasi mai il nucleo, ma solo il protoplasma. I nuclei, o affatto liberi o circondati da scarso alone protoplasmatico, che va man mano perdendosi, non presentano mai alcun fenomeno dell'attività cellulare. La loro proliferazione, ricordata ed ammessa da

pressochè tutti gli autori, assolutamente non la potei constatare coi noti metodi moderni. Anzi i nuclei vanno disaggregandosi in granulazioni più o meno grosse, più o meno regolari, le quali si scorgono, alle volte, trattenute ancora fra di loro da avanzi della sostanza nucleare: si presentano, insomma quelle forme di fragmentazione (*Fragmentirung* dell'Arnold), che esprimono un processo regressivo dei nuclei.



Altri noduli, nell'interno dell'acino, contengono pure delle llule semoventi; ma sempre in numero scarso ed inferiore sai alla quantità dei nuclei provenienti dal disfacimento cellare. In alcuni dei nuclei stessi si scorge pure una sottile te fibrinosa disposta nelle solite maglie. Neppure negli eleenti semoventi costitutivi dei noduli, non mi fu dato di osrvare la cariocinesi.

Alla periferia dell'acino i nodi tifosi sono prevalentemente formati da una infiltrazione di cellule semoventi, che ha luogo attorno ai vasi sanguigni o ai canalicoli biliari. Solo si può parlare di noduli, alloraquando si abbia la sezione trasversa di questi vasi o canali biliari col rispettivo accumulo di cellule semoventi, poichè, quando si hanno sezioni longitudinali dei vasi sanguigni o dei canalicoli biliari, appare netta la disposizione di questi, l'infiltrazione perilobulare. Alle volte si trovano appunto dei nodi di necrosi da coagulazione nell'interno dell'acino, contigui a infiltrazione parvicellulare perilobulare.

Da ultimo, debbo notare che, talvolta, nei noduli tifosi si ha una vera liquefazione del tessuto. Questo fatto è importante, perchè può essere messo in rapporto colla proprietà piogena del microrganismo del tifo, riconosciuta da poco tempo, e che quivi è affatto il caso di ricordare.

Già da moltissimo tempo furono descritte parecchie affezioni purulente nel corso della febbre tifoide. Mentre prima si credeva che si dovesse sempre trattare di una infezione mista, ora invece si è dimostrato che questi processi morbosi possono essere causati dal medesimo agente della affezione generale. Già nel 1886, Freund (1) interpretava l'infiammazione ossea, insorgente post typhum, come dipendente dal bacillo tifoideo, che invadeva il midollo osseo.

Tayon (2) trovò, nel 1885, che, iniettando negli animali i bacilli del tifo, sorgeva la suppurazione nel punto di iniezione ed ivi constatò la presenza del bacillo del tifo.

Rendu (3), avendo studiato una pleurite ed una pneumonia tifosa, ammise la pleurite, come dovuta alla propagazione della infiammazione specifica dei polmoni, e, oltre ai comuni cocchi piogeni, trovò anche il bacillo di Eberth.

Weichselbaum ebbe ad osservare il bacillo tifoso, solo, nel pus d'una peritonite consecutiva a rottura di milza.

---

(1) Freund, *Berl. Kl. Woch.*, 1886.
(2) Tayon, *Progr. méd.*, 1885.
(3) Rendu, *France méd.*, 1885.

Foà e Bordoni (1) hanno dimostrato che talora le affezioni polmonari, nel corso dell'ileotifo, devonsi al bacillo stesso di Eberth.

A. Fränkel (2) nel 1887 dimostrò l'esclusiva presenza del bacillo tifico in una peritonite purulenta saccata.

A stabilire il fatto della azione piogena del bacillo tifoso, vennero, in seguito, le osservazioni di altri autori, fra cui Tavel (3), Roux (4), Ebermaier (5), Valentini (6), Orlow (7), Kamen (8), Balp (9), Patella (10), Loriga e Pensuti (11), Colzi (l. c.).

Muscatello (12) ha confermato l'azione piogena del bacillo tifoso con iniezioni sottocutanee e intramuscolari di colture negli animali. Detta azione è pure confermata dalle ricerche recenti di Orlow (13). Questi, con iniezioni di colture del bacillo del tifo, fatte in conigli, sotto il periostio, nei muscoli, sotto la pelle, ha prodotto una infiltrazione di cellule rotondeggianti e, più raramente, suppurazione. Egli conchiude che le suppurazioni, complicanti il corso e la convalescenza del tifo, sono dovute ai bacterii specifici di questa malattia, se essi solo si trovano nel pus.

Mya e Belfanti (l. c.) constatarono molte localizzazioni del bacillo tifico, come un'orchite purulenta, una broncopneumonite, un'arterite purulenta, un ascesso pleurico, e vi trovarono il bacillo tifoso. Essi istituirono molte esperienze per

---

(1) Foà e Bordoni, « Sulla pneumonite dei tifosi » (*Rif. Med.* 1887).
(2) A. Fränkel, *Verhandl. d. VI Congr. f. inn. Med.* Wiesbaden, 1887.
(3) Tavel, *Corr. bl. f. schweizer Aerzte*, 1887.
(4) Roux, *Lyon méd.* 1888.
(5) Ebermaier, *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.*, 1889.
(6) Valentini, *Berl. Klin. Woch.*, 1889.
(7) Orlow, Wratsch, 1889.
(8) Kamen, *Intern. Kl. Rundschau*, 1890.
(9) Balp, *Riv. gen. ital. di cl. medica*, 1890.
(10) Patella, *Riforma medica*, 1890.
(11) Loriga e Pensuti, *Riforma medica*, 1890.
(12) Muscatello, *Riforma Medica*, 1890.
(13) Orlow, *Centralbl. f. Chirurgie*, 1890; *Centralbl. f. allg. Path.*, 1890.

determinare l'influenza patogena del bacillo sovra organi determinati, e vennero nella conclusione che il microrganismo tifoso, introdotto nel circolo, può fissarsi in dati organi, e indurre, in essi, processi infiammatorî, se lo stato locale degli organi viene turbato da una causa qualunque.

Colzi (l. c.) colla iniezione intravenosa di colture del tifo, con consecutiva frattura, ottenne suppurazione nel focolaio di frattura, come pure l'ottenne colla iniezione sottocutanea.

Michon (4) ha ottenuto del pus, iniettando nel tessuto cellulare una coltura pura di bacillo di Eberth, proveniente dal pus di un tifoso, colpito da peritonite.

È dunque provato che il bacillo del tifo può essere, sia per sè stesso, sia per i suoi prodotti, causa di suppurazione.

Pertanto la necrosi da coagulazione, la fuoriuscita di elementi, la liquefazione, alle volte, del tessuto, sono ragionevolmente da ritenersi dovute alla attività del bacillo di Eberth. In vero, nell'interno dei nodi tifosi, costituiti o da elementi del parenchima epatico, colpiti dalla necrosi, da coagulazione, o da questi stessi elementi frammisti a cellule semoventi (con liquefazione, o no, del tessuto), o da infiltrazioni parvicellulari perilobulari, ho riscontrato, come dissi più sopra, un bacillo che, per il suo aspetto, per il modo di comportarsi colle sostanze coloranti, ho ragione di ritenere sia il bacillo tifoideo.

Dopo quanto ho esposto, mi ritengo autorizzato a conchiudere:

1° Che i così detti noduli tifosi sono causati dal bacillo tifoso.

2° Che l'azione del bacillo stesso nei noduli si rileva ora con una necrosi da coagulazione invadente il protoplasma cellulare e risparmiante più o meno il nucleo; ora con accumulo di cellule semoventi frammiste a detriti di nuclei; ora con una infiltrazione perilobulare di cellule semoventi; ora con proprietà piogeniche.

---

(1) Michon, « Des agents pathogènes de la supp. dans la f. v. », Paris, 1890.

Rivista Bibliografica Italiana

Il cervelletto. — *Nuovi studi di fisiologia normale e patologica del Prof.* Luigi Luciani. — Firenze, Successori Lemonnier, 1891, pag. 318.

Questo è il titolo di un grosso e pregevolissimo volume, in cui il Prof. Luciani espone tutte le sue ricerche fatte per la durata di più di otto anni, onde determinare quale sia la funzione del cervelletto. Il metodo seguito dall'A. per riescire al suo intento consiste nell'estirpazione parziale, o totale dell'organo nei cani e nelle scimie, fatta con un suo speciale processo, il quale gli ha permesso di mantenere in vita per molto tempo gli animali operati, e così di esaminarli quando erano già scomparsi i fenomeni irritativi provenienti dall'operazione. In una prima serie di indagini il cervelletto venne diviso in due metà simmetriche mediante un taglio longitudinale mediano, onde vedere se questo organo fosse unico fisiologicamente, come lo è anatomicamente. I risultati ottenuti dimostrarono, che colla sezione mediana del cervelletto hanno luogo notevoli deficienze funzionali, cioè astenia, atonia ed astasia muscolare, ed alterazioni trofiche consecutive in vie e centri nervosi limitrofi, fatti tutti che dimostrano che il cervelletto è un organo unico, non divisibile per metà. — Coll'estirpazione del lobo medio o verme del cervelletto si hanno subito fenomeni irritativi, che si appalesano con contratture, ecc., e quindi fenomeni di deficienza funzionale, i quali però man mano scompaiono per una vera compensazione

organica. Questo ultimo fatto dimostra all'evidenza che le parti residue possono supplire alla funzione della parte distrutta, e che quindi non vi è differenza di funzione fra le diverse parti del cervelletto. — Queste esperienze confutano l'opinione di Nohtnagel, il quale ritiene che l'atassia cerebellare provenga da una lesione del verme, e manchi sempre quando sono lesi i lobi laterali. Probabilmente il mostrarsi più frequente l'atassia cerebellare nelle lesioni del verme può dipendere dal fatto, che queste lesioni producono la distruzione di un maggior numero di elementi nervosi, perchè nella linea mediana molte fibre che provengono dai fasci peduncolari si decussano e si mettono in rapporto cogli elementi ganglionari del lato opposto. Nelle estirpazioni unilaterali complete od incomplete si ebbero fenomeni irritativi, fra cui predomina il rotamento del capo, o di tutto il corpo sull'asse longitudinale dal lato operato in causa dell'irritazione del peduncolo. L'irritazione del peduncolo però non deve ritenersi come l'unico fattore nella produzione del fenomeno, ma si deve ammettere che vi abbia anche parte la funzione visiva, e lo strabismo che in questi casi ha luogo, giacchè la rotazione del corpo manca, se gli animali, a cui si fa l'estirpazione di metà del cervelletto, erano stati da prima acciecati. — Estirpando infine completamente, o no, tutto il cervelletto, si hanno fenomeni più intensi di quelli che si osservano nella estirpazione del lobo mediano, fenomeni distrofici un po' più accentuati di quelli che si osservano nei casi precedenti, e i fenomeni di compensazione funzionale sono più esagerati.

I fenomeni di compensazione, cioè quei fenomeni per cui l'animale tenta di rimediare ai disturbi di locomozione, e di mantenersi il meglio che può nella posizione di equilibrio, sono legati all'integrità delle sfere motrici cerebrali, giacchè essi non hanno più luogo se queste vengono distrutte.

Sarebbe impossibile in questo breve cenno riassumere tutta la parte critica delle diverse teorie sull'atassia cerebellare; ci limiteremo invece a dare le ultime conclusioni a cui è arrivato l'Autore.

Il cervelletto è un organo istologicamente e funzionalmente bilaterale, ma prevalentemente diretto, e di funzione omogenea. La sua influenza si fa sentire su tutti i muscoli in genere, ma in ispecie sui muscoli degli arti inferiori o posteriori e su quelli del tronco. Benchè il cervelletto sia un organo direttamente eccitabile con stimoli artificiali, pure l'estirpazione di esso non altera per nulla i varii sensi, quindi non è un organo sensoriale. Esso invece ha un'azione funzionale, che consiste in un'azione neuromuscolare stenica, tonica e statica, cioè aumenta l'energia potenziale degli apparecchi neuromuscolari, accresce il grado della loro tensione durante le pause funzionali, ed accelera il ritmo degli impulsi elementari durante la loro attività funzionale.

Ha poi un'azione trofica diretta, che si manifesta con degenerazioni e sclerosi, ed una indiretta che si palesa con degenerazioni cutanee e muscolari, con poliuria, glicosuria, acetonuria e rapida decrescenza dell'animale a cui sia esportato una parte o tutto il cervelletto.

Queste funzioni non sono però specifiche, perchè tutte le altre parti del sistema nervoso ne posseggono.

Invece il cervelletto deve considerarsi come un organo di rinforzo, rinforzo che si esplica coll'azione stenica, tonica e statica esercitata dal cervelletto sull'insieme del sistema, e in diversa misura su tutti i muscoli volontarii.

SALVIOLI.

Annali dell'Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Roma. — Vol. I (Nuova Serie), 1891-92.

Sotto lo stesso titolo, negli anni 1889 e 90, era stata per ura del Prof. Angelo Celli pubblicata una serie di pregeoli lavori sperimentali che rappresentavano l'attività scienica dell'Istituto d'Igiene dell'Università di Roma, da lui iretto.

Una tale pubblicazione, però, limitata ad un numero esiguo

di copie, non potea avere fra gli studiosi una sufficiente diffusione; ed è perciò che il Prof. Celli ha dato ad essa la forma di un periodico, allargandone in pari tempo la base scientifica, coll'accogliervi eziandio i lavori eseguiti negli altri laboratorî congeneri d'Italia.

Il volume I della serie nuova ci presenta adunque il saggio di un nuovo « periodico italiano d'igiene sperimentale » (per quanto il titolo sia ancora rimasto lo stesso di prima), il quale contiene ben 18 lavori su argomenti svariati d'igiene, appartenenti in gran parte all'Istituto di Roma ed in parte ad altri laboratorî di Pavia, di Pisa e di Palermo.

Facciamo plauso volentieri all'iniziativa del Prof. Celli, il quale ha voluto che lo sviluppo notevole assunto in breve tempo dal movimento igienico in Italia fosse anche rappresentato da un giornale scientifico, che ne raccogliesse specialmente la parte sperimentale.

BORDONI-UFFREDUZZI.

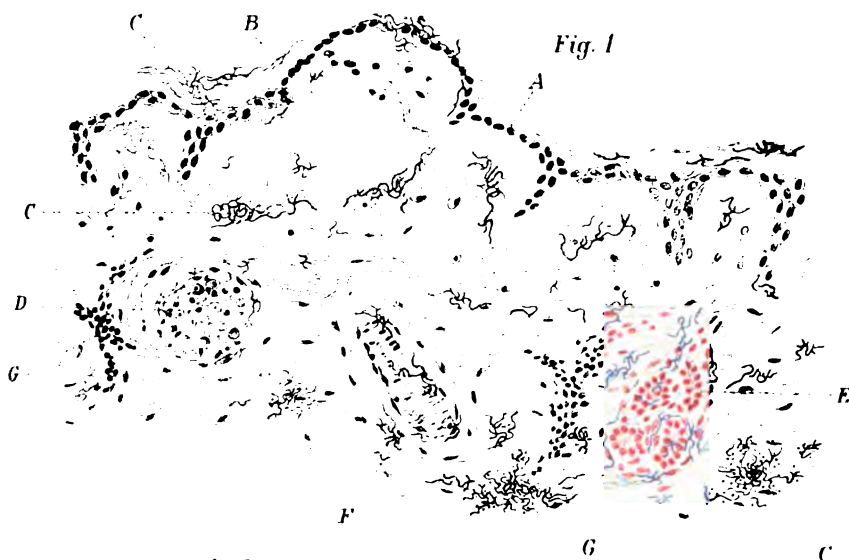
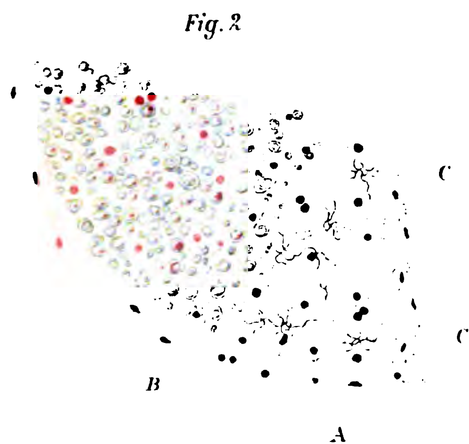


Fig. 1

Fig. 2



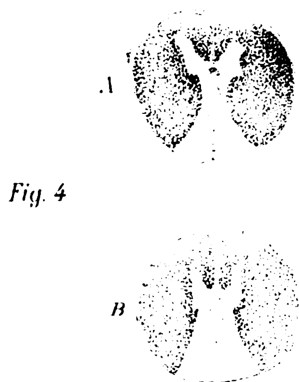


Fig. 4

Fig. 3

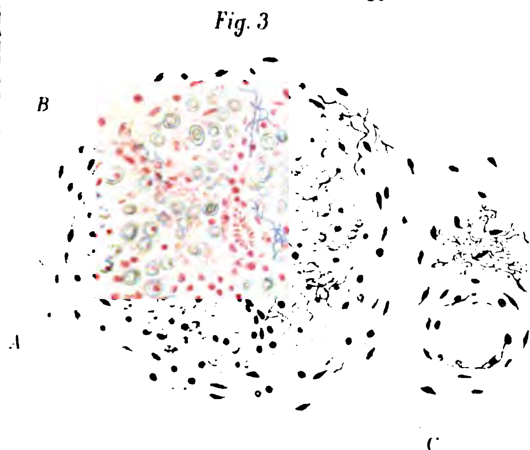


Fig. 5



ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 7.

Laboratorio di Patologia generale dell'Università di Torino.

SULLA INFLUENZA DELLA TEMPERATURA

NELLA RIGENERAZIONE CELLULARE

CON SPECIALE RIGUARDO ALLA GUARIGIONE DELLE FERITE

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL DOTTOR

Rodolfo PENZO

Assistente.

(Tav. II).

Dopo che il Dott. B. Morpurgo (1) potè dimostrare che se ad un coniglio si estirpa il ganglio cerv. sup. del simpatico da una parte, nell'orecchio dello stesso lato, reso per questa via permanentemente iperemico, i processi di rigenerazione

(1) B. Morpurgo, « Sui rapporti della rigenerazione cellulare con la paralisi vasomotoria » (*Rendiconti Atti R. Acc. Lincei*, Serie IV, vol. VI, fasc. 2°, 1890, 1° semestre).

Prima ancora del Morpurgo, lo Snellen « De involoed der zenuwen voen op de onts teking proefonderwindelijk getoetst » (*Diss. inaug.*, Utrecht, 1857) aveva osservato come il processo inflammatorio destato in una data parte, venga favorito nel suo decorso dal taglio dei n. vasomotori costrittori che reggono tale territorio. Egli, per es., osservò, che recidendo da un lato il simpatico cervicale in un coniglio ed applicando sull'occhio del lato corrispondente dell'acido acetico, la cheratite che ne segue decorre più rapidamente, ed insieme alla più rapida neoformazione vascolare si ha la guarigione in un tempo più breve di quello che si abbia in casi simili su occhi normali.

cellulare sono più attivi che non nell'altra parte, nella quale è intatto il n. simpatico, era interessante di vedere se si potesse osservare un tale aumento di attività rigenerativa anche in tessuti con sistema nervoso integro, ma resi costantemente iperemici soltanto col mantenerli ad una temperatura superiore alla normale. In altre parole: era interessante il vedere quale azione eserciti la temperatura sui processi di rigenerazione cellulare.

Postomi per consiglio e sotto la guida del Prof. Bizzozero allo studio dell'argomento, ho diviso il mio còmpito in due parti: proponendomi di ricercare dapprima quale azione eserciti la temperatura sui processi di rigenerazione cellulare fisiologica, e secondariamente su quelli conseguenti a ferite.

Per effettuare le mie ricerche era assolutamente indispensabile di trovare un mezzo che permettesse di mantenere, per un tempo desiderato, due parti corrispondenti di uno stesso animale a temperature costanti ma diverse per le due parti. Non senza qualche difficoltà, mi riescì finalmente di costruire un apparecchio capace di soddisfare a tutte le esigenze del mio studio; vale a dire un apparecchio, nel quale potevo mantenere per molti giorni di seguito ed in eccellenti condizioni di salute un coniglio, di cui uno degli orecchi od una delle zampe anteriori (a seconda dei casi) si trovasse in un ambiente riscaldato a temperatura costante, e l'altro orecchio o zampa in un ambiente raffreddato a temperatura costante.

Eccone la descrizione:

L'apparecchio (fig. 1, 2, 3) consta essenzialmente di due parti: l'una che serve a mantenere il coniglio in una relativa immobilità, l'altra che funziona veramente da termostato.

La prima parte è costituita da un manicotto quadrangolare di legno, che misura internamente cm. 60 in lunghezza e cm. 15 sia in altezza che in larghezza.

Una, *a*, delle quattro assicelle che compongono il manicotto, ha uno spessore di $^1/_2$ cm. soltanto, e questa ne rappresenta il tetto. Ai lati della linea mediana e verso una delle estremità di quest'assicella, sono praticati simmetricamente due

fori ovalari, destinati a lasciar fuoriuscire dal manicotto le orecchie del coniglio.

L'assicella, *b*, opposta al tetto, ha invece uno spessore di cm. 3, e nella sua linea mediana, a 20 cm. da uno dei suoi lati minori, presenta un' apertura elittica di cm. 5 × 18, che permette la caduta delle feci ed orine del coniglio.

Delle due assicelle laterali, di spessore mediocre, l'una, *n*. fissa, mantiene saldamente riunito il tetto al pavimento del manicotto; l'altra, *o*, è mobile e permette l'introduzione del coniglio nell'apparecchio.

Al manicotto ora descritto va annessa un' assicella, *c*, dello spessore di 1 cm., rettangolare di cm. 40 × 14. Questa, nella linea mediana ed in uno dei lati minori, presenta un'apertura di cm. 15 × 4, foggiata ad U, con la concavità rivolta a quel lato dell'assicella in cui s'è fatta l'apertura. Ai margini laterali, che limitano l'apertura in discorso, sono fissate perpendicolarmente sull'assicella due sottili liste di legno, *d*, lunghe cm. 8 ed alte cm. 2 ½, le quali hanno lo scopo di impedire al coniglio l'adduzione delle zampe posteriori, che vengono fermate con piccole cinghie di cuoio sull'assicella.

Legato così il coniglio, lo si introduce sull'assicella nel manicotto; si fanno uscire gli orecchi dai fori praticati nel tetto e si fissa posteriormente con un chiodino l'assicella che porta il coniglio al pavimento del manicotto, curando di far corrispondere l'apertura elittica di questo con quella ad U dell'assicella.

Con un cuneo, *e*, spinto dal davanti fra il pavimento del manicotto e l'assicella su cui poggia direttamente il coniglio, si solleva anteriormente quest'ultima quanto basta perchè il coniglio venga a trovarsi sopra un piano inclinato, che, salendo all'innanzi, mentre gli lascia una certa libertà per piccoli movimenti della parte posteriore del corpo, gli impedisce di abbassare troppo la testa e di ritirare quindi gli orecchi entro il manicotto.

Ad impedire poi che il coniglio faccia con la testa movimenti laterali esagerati, giovano cuscinetti (fig. 3. *p*) di legno

convenientemente fissati; e così pure giova di fissare posteriormente un'assicella (m, fig. 1ª) che permetta al coniglio di appoggiarsi, tendendo questi, per stanchezza, a scivolare sempre sul piano inclinato verso l'indietro.

La seconda parte dell'apparecchio, cioè quella che funziona da termostato, è costituita da due cassette metalliche (fig. 3ª. f'-f') cubiche, della capacità di circa 6 litri ciascuna, legate assieme, ma isolate fra loro da un sottile tramezzo di legno, q.

Queste due cassette appoggiano con la parte più interna (rispetto al tramezzo ora menzionato) del loro fondo sul tetto del manicotto, mentre con la parte rimanente sporgono lateralmente per modo che, ove abbisogni, riesce possibile sottoporvi una piccola fiamma, r, e riscaldarne l'acqua di cui si possono riempire a mezzo di una tubulatura, g, saldata sulla parete superiore.

Nel fondo di ciascuna cassetta si apre con apertura, corrispondente ai fori esistenti nel tetto del manicotto contentivo, una guaina metallica, h, a pareti sottili, che accoglie le orecchie del coniglio e le isola dall'acqua contenuta nelle cassette in discorso, mentre le mantiene in un ambiente la cui temperatura costante si può graduare a volontà col mantenere l'acqua alla temperatura voluta.

Nella parete superiore d'ogni cassetta, oltre al tubo destinato all'entrata dell'acqua, sonvi praticati due fori che conducono in due guaine cilindriche, pure metalliche, capaci di accogliere il bulbo di un termometro, i, e quello di un termoregolatore a mercurio, l, modello Reichert.

In tutte le mie esperienze mantenni in una delle cassette l'acqua riscaldata a circa $+38°$, e nell'altra a circa $+10°$ (1). Questo potei raggiungere facilmente sottoponendo ad una delle cassette una piccola fiamma a gaz regolata dal termoregolatore applicato alla cassetta stessa, ed applicando all'altra una seconda tubulatura esterna, s, nella parte bassa di una parete

(1) Quando l'apparecchio sia ben montato, e si abbia cura di sorvegliarlo, è difficile avere variazioni di temperatura superiori ad un grado.

laterale, la quale permetteva l'entrata nella cassetta ad una corrente continua d'acqua raffreddata alla temperatura voluta, che dopo avervi circolato, ne esciva per la tubulatura superiore unita ad un tubo di scarico, *t.*

Nei casi, nei quali anzichè agli orecchi rivolsi le mie ricerche agli arti anteriori dei conigli, mi servì egregiamente un apparecchio costruito sullo stesso principio di quello ora descritto, ma soltanto adattato allo scopo. Soppressi il tetto ed il piano inclinato del manicotto e fissai invece direttamente al pavimento di quest'ultimo ridotto ad 1 cm. di spessore, gli arti posteriori del coniglio nella stessa maniera seguita nel fissarli sul piano inclinato.

Per due fori praticati obbliquamente dall'indietro all'avanti, ai lati della linea mediana e nella parte anteriore del pavimento, facevo uscire di sotto al manicotto i due arti anteriori del coniglio. Questi venivano accolti in due adatte guaine circondate dall'acqua contenuta in due cassette metalliche, disposte sotto al pavimento del manicotto in modo del tutto analogo a quello, secondo il quale erano disposte sul tetto le cassette destinate al riscaldamento ed al raffreddamento delle orecchie.

Con una cinghia di cuoio venivano fissate al pavimento del manicotto le spalle del coniglio, rendendogli così impossibile il ritirare le zampe dalle guaine.

Ad impedire poi la formazione di edemi nelle parti più basse degli arti anteriori immobilizzati, tutto il manicotto veniva fortemente inclinato così, che gli arti stessi si trovassero in un piano quasi orizzontale.

Un coniglio chiuso nell'uno o nell'altro di questi apparecchi, sebbene costretto ad una immobilità quasi completa, si conserva in ottime condizioni di salute anche per molti giorni di seguito; tuttavia l'esperienza mi ha insegnato che, quando le condizioni dell'esperimento lo permettono, è bene di concedere ogni giorno un paio d'ore di libertà all'animale.

I.

Influenza della temperatura sui processi di rigenerazione cellulare fisiologica.

a) *Rigenerazione dell'epitelio.*

Sapendosi per le osservazione del Fraisse (1), del Barfurth (2) e di altri autori, che le prime manifestazioni del processo di rigenerazione cellulare si hanno nell'epidermide, ho creduto di dare la preferenza a questo tessuto nelle mie prime ricerche.

Per queste mi servirono bene le orecchie di conigli di un anno a due anni di età, che teneva costantemente nel mio apparecchio per un numero d'ore diverso per ogni singola esperienza. Come si vedrà dalla tabella riassuntiva, le temperature alle quali vennero esposti i due orecchi di ciascun coniglio, oscillarono, per ogni caso, intorno agli + 11° per l'orecchio raffreddato, ed intorno ai + 38° per quello riscaldato.

Finchè le orecchie dell'animale si trovano in tali condizioni di temperatura, vi si osservano fenomeni vasomotori che sono d'indole diversa a seconda che si considerano nell'orecchio raffreddato od in quello riscaldato. Nel primo si hanno le note di una evidente ischemia, nel secondo invece si hanno i caratteri di una iperemia attiva, ai quali ultimi, in 2ª e 3ª giornata, si associa una desquamazione forforacea dell'epidermide.

Appena si toglie il coniglio dall'apparecchio, l'orecchio raffreddato mantiene i caratteri dell'ischemia, quello riscaldato i caratteri dell'iperemia attiva; ma ben presto, già dopo una mezz'ora, per il modificarsi della circolazione sanguigna, non si avverte più alcuna differenza nella temperatura, nè nel colorito più o meno roseo dei due orecchi. Dopo un'ora, od anche meno, la temperatura ed il rossore vanno aumentando nell'orecchio che nel termostato si trovava a bassa temperatura, mentre vanno diminuendo gradatamente nell'orecchio opposto;

(1) Fraisse, « Die Regeneration von Geweben und Organen bei den Wirbelthieren ». Cassel und Berlin, 1885, p. 153.

(2) Barfurth, « Zur Regeneration der Gewebe » (*Arch. f. Mikroskopische Anat.*, Bd. 37, p. 4).

finchè dopo un paio d'ore od anche meno dacchè il coniglio venne messo in libertà, arriva un punto in cui l'orecchio, che nel termostato era iperemico, apparisce normale o con un leggiero grado di ischemia, e quello che era ischemico apparisce iperemico. Tale reazione, già osservata in diverse condizioni dall'Hoppe (1), non è del tutto transitoria, perdurando circa un paio di giorni; poscia, rientrando la circolazione nei limiti normali, essa va gradatamente scomparendo.

Trascorso il tempo stabilito per la durata dell'esperimento e tolto il coniglio dall'apparecchio, subito gli praticavo due fori della medesima grandezza, uno per ciascun orecchio, su punti simmetrici e che per i loro rapporti di vicinanza coi grossi vasi potevano dirsi perfettamente corrispondenti. I pezzi asportati nel praticare tali fori, costituivano il materiale per l'indagine microscopica.

Devo notare che i risultati di ogni esperimento non sono dedotti dall'esame di due soli pezzi tolti da punti corrispondenti dei due orecchi, ma bensì da quello di più pezzi, asportati con le cautele poc'anzi ricordate, da punti diversi ma simmetrici dei due orecchi. Questo ho fatto perchè anch'io, come già il Morpurgo (2), ho potuto persuadermi come il grado di attività rigenerativa non sia sempre lo stesso nei diversi punti di un medesimo orecchio.

Come liquido fissatore mi servii di quello proposto dal Flemming; successivamente inclusi i pezzi in paraffina e ne feci tagli seriali in piano trasversale per avere delle sezioni che comprendessero tutto lo spessore del padiglione dell'orecchio, vale a dire i due strati cutanei (pelle esterna e pelle interna) e la cartilagine interposta.

Per mettere in evidenza le mitosi, adoperai con preferenza i metodi di colorazione proposti da Bizzozero (3).

Nell'intento di evitare la descrizione particolareggiata delle singole osservazioni, tutte condotte coi metodi esposti in precedenza, ne ho raccolti i risultati nella tabella seguente, che in breve riassume la prima serie delle mie ricerche.

---

(1) Hoppe F. « Ueber den Einfluss des Warmeverlustes auf die Eigentemperatur warmblütiger Thiere » (*Arch. Virchow*, 1857, Bd. XI, p. 453).

(2) Morpurgo, Vedi lav. cit.

(3) Bizzozero, *Zeitschrift f. Wiss. Mikroskopie*. 1886, Bd. III, 24-27.

Numero progressivo dell'esperimento	Età del coniglio	Durata dell'esperimento	Temperatura costante alla quale venne esposto		Numero delle sezioni tratte		Numero delle mitosi nelle cellule epiteliali (1), su 100 sezioni tratte		Mitosi riscontrate in altri tessuti	
			l'orecchio riscaldato	l'orecchio raffreddato	dall'orecchio riscaldato	dall'orecchio raffreddato	dall'orecchio riscaldato	dall'orecchio raffreddato	dell'orecchio riscaldato	dell'orecchio raffreddato
I	mesi 12	ore 36	+36°, +38°	+9°, +12°	400	336	521	394	—	—
II	» 14	» 40	+36°, +38°	+9°, +12°	230	278	665	348	—	—
III	» 16	» 48	+36°, +39°	+9°, +11°	520	490	472	311	cartilag. 1	—
IV	» 20	» 60	+37°, +39°	+10°, +13°	370	415	420	315	—	—
V	» 17	» 72	+37°, +38°	+10°, +12°	508	480	398	270	—	—
VI	» 21	» 90	+36°, +38°	+9°, +11°	360	420	440	360	cartilag. 1	—
VII	» 20	» 120	+36°, +40°	+9°, +13°	230	250	302	280	—	—

(1) Intendasi: complessivamente nelle cellule epiteliali degli strati profondi dell'epidermide, in quelle dei bulbi dei peli ed in quelle parietali delle ghiandole sebacee.

Come si vede dalla tabella, in ogni caso ebbi a constatare molto più numerose le figure cariocinetiche nei tessuti epiteliali appartenenti all'orecchio riscaldato a circa + 38°, che non in quelli appartenenti all'orecchio raffreddato a circa + 10°. Questo significa, almeno per gli epitelî, che la temperatura esercita una notevole influenza sui processi di rigenerazione cellulare, venendo questi resi più attivi dal caldo e ritardati od ostacolati dal freddo.

Confrontando fra loro le condizioni ed i risultati di ogni singola osservazione, parrebbe che la favorevole influenza esercitata da una temperatura costante di + 38° sul processo di moltiplicazione cellulare negli epitelî, raggiunga un maximum nei primi due o tre giorni e diminuisca poi gradatamente nei giorni successivi.

Infatti, mentre nelle mie prime osservazioni, fatte su tessuti esposti per due o tre giorni a temperature differenti ma costanti, ho visto il numero delle mitosi negli epitelî dell'orecchio riscaldato superare di molto quello delle mitosi riscontrate nell'orecchio raffreddato, nelle ultime osservazioni, fatte su tessuti che rimasero esposti per un tempo più lungo alle medesime temperature, non ebbi ad osservare una differenza così spiccata.

Attenendosi a queste osservazioni, bisognerebbe supporre, che negli orecchi di conigli sani ed adulti esposti costantemente a + 38°, il processo di rigenerazione degli epitelî, dopo aver attraversato dapprima sotto lo stimolo del calore un periodo di esagerata funzionalità, entri in un periodo di esaurimento. Benchè ulteriori osservazioni m'abbiano fornito, come si vedrà più innanzi, nuovi argomenti in favore di questa ipotesi, non credo tuttavia di spendervi altre parole, richiedendo la questione di essere meglio chiarita con nuove e più adatte ricerche.

b) *Rigenerazione dei tessuti congiuntivo e cartilagineo adulti.*

Se per la prima serie delle mie osservazioni fatte su animali

adulti, posso affermare che il calore eccita l'attività rigenerativa fisiologica degli epitelî, altrettanto non posso dire dei tessuti cartilagineo e congiuntivo. Infatti, come risulta dalla tabella precedente, su migliaia di sezioni esaminate non ebbi a riscontrare che due sole mitosi nelle cellule cartilaginee appartenenti all'orecchio riscaldato; e questo certamente non basta a provare come per l'azione costante e prolungata di una temperatura di + 38°, si possa ridestare nei tessuti in discorso quell'attività rigenerativa, di cui, in condizioni normali ed a sviluppo completo, sono privi.

Stante l'importanza della questione, ho creduto opportuno di insistere su questa parte del mio lavoro, nella speranza di giungere a migliori risultati col prolungare molto più di quello che non avessi fatto nelle prime esperienze, l'azione del calore sulle orecchie dei conigli.

Feci quattro osservazioni su conigli che avevano oltrepassati i due anni di età:

In due di questi, tenuti nell'apparecchio per 10 giorni di seguito, uno degli orecchi venne mantenuto ad una temperatura costante di circa + 10°, l'altro ad una di circa + 40°; negli altri due, tenuti nell'apparecchio per 12 giorni, uno degli orecchi venne mantenuto costantemente a circa + 11°, l'altro a circa + 38°.

Raccolsi e trattai i pezzi destinati all'esame microscopico, attenendomi ai metodi già seguiti nelle prime ricerche; ed in ogni caso estesi l'osservazione a qualche centinaio di sezioni.

Il risultato di queste quattro osservazioni può dirsi negativo, non avendo rinvenuta che una sola figura non dubbia di mitosi (doppio astro) in una cellula cartilaginea appartenente ad un orecchio tenuto per 10 giorni a + 40°.

Vidi inoltre la parte cromatica di due nuclei, pure appartenenti a cellule cartilaginee, evidentemente disposti a filamenti, ma non in modo così chiaro da dare la certezza che si trattasse di nuclei in scissione cariocinetica: uno di questi nuclei apparteneva alla cartilagine di un orecchio tenuto per

12 giorni a 38°, l'altro a quella di un orecchio tenuto per 10 giorni a + 10°. Non mi venne dato di riscontrare alcuna mitosi nelle cellule fisse del congiuntivo.

Osservo da ultimo, che tanto nei pezzi provenienti dagli orecchi tenuti per 10 giorni a + 40°, quanto in quelli provenienti dagli orecchi tenuti per 12 giorni a + 38°, vidi assai scarse le mitosi nelle cellule epiteliali; il che aggiunge qualche valore all'ipotesi esposta nel paragrafo precedente.

c) *Rigenerazione ed accrescimento dei tessuti in via di sviluppo.*

Quale azione esercita la temperatura sulla rigenerazione cellulare e sull'accrescimento dei tessuti normali in via di sviluppo?

Per rispondere a questa domanda che sorge spontanea dopo i risultati delle mie prime ricerche, ho istituita una serie di osservazioni valendomi degli orecchi di conigli giovanissimi, che non avevano ancora raggiunto il 2° mese di età e che appartenevano a razza con orecchie assai sviluppate.

Per la parte sperimentale di tali osservazioni mi servì egregiamente un apparecchio di minori proporzioni, ma nel resto perfettamente simile a quello descritto nel principio di questo mio lavoro.

Feci cinque osservazioni su conigli diversi e sempre con l'identico risultato; per questo, ad evitare lungaggini, mi limiterò ad esporre quelle tre che si riferiscono agli animali presentati alla R. Accademia di Medicina di Torino, nelle Sedute del 17 aprile e 4 giugno 1891.

Osservazione I.

Il 7 aprile ho messo nel mio termostato un coniglio giovane di 45 giorni circa, per modo da mantenergli costantemente uno degli orecchi in un ambiente raffreddato a + 12°, e l'altro in un ambiente riscaldato a + 37°.

La misura precisa delle orecchie, presa dal vertice del cranio

all'apice delle stesse (1), dava allora per tutte e due una eguale lunghezza di cm. 7,5.

Dal giorno 7 al 17 aprile, il coniglio venne tolto dal termostato e lasciato in libertà due sole volte per 13 ore continue; ma in via ordinaria, non godette che 5 ore di libertà ogni giorno.

Ometto di riferire in questa ed anche nelle successive osservazioni, quanto concerne i fenomeni vasomotori osservati nelle orecchie dei conigli durante l'esperimento, perchè dovrei ripetere quanto ho già detto più sopra.

L'orecchio sinistro tenuto alla temperatura di +37°, andò man mano sviluppandosi nei giorni successivi assai più rapidamente dell'altro tenuto ad una temperatura di +12°, per modo, che già il 13 aprile, dopo 131 ore di permanenza nel termostato, esso superava il destro in lunghezza di *un centimetro*, e dopo 190 ore, la differenza in lunghezza fra i due orecchi era di mm. 13.

Naturalmente l'orecchio sinistro tenuto a +37°, in proporzione alla maggiore lunghezza, si è sviluppato più dell'altro anche in tutti gli altri diametri.

Il 17 aprile (dopo 191 ore) asportai dei pezzetti di eguale grandezza da punti simmetrici dei due orecchi; li fissai con liquido del Flemming, e, dopo averli inclusi in paraffina, ne feci tagli seriali in piano trasversale, per modo da comprendere tutto lo spessore del padiglione, vale a dire i due strati cutanei e la cartilagine intermedia.

Per la colorazione adoperai anche qui a preferenza il metodo proposto da Bizzozero, come quello che colorando le sole mitosi, ne facilita di molto la ricerca. Per rilevare le altre particolarità di struttura, oltre alla colorazione semplice con ematossilina, ricorsi con vantaggio a quella doppia con ematossilina e saffranina (ematossilina, saffranina, alcool leggiermente cromico, alcool assoluto leggiermente picrico, olio di bergamotto).

Dall'esame microscopico dei tessuti componenti i due orecchi, risulta come in quelli tenuti al caldo l'attività rigenerativa degli elementi cellulari (rappresentata dal numero delle mitosi) sia superiore a quella dei tessuti tenuti al freddo.

Avverto però che le figure non dubbie di mitosi riscontrate nei tessuti congiuntivo e cartilagineo dell'orecchio caldo, furono sempre

(1) Anche nelle osservazioni successive mi limiterò a dare la misura del diametro longitudinale degli orecchi, perchè, essendo questo il diametro maggiore, permette di rilevare più facilmente le differenze proporzionali di misura.

assai scarse (3-5 su 100 tagli); e quindi in quantità non sufficiente per spiegare col loro numero la notevole differenza in più, raggiunta durante l'esperimento dai diametri dell'orecchio caldo, in confronto di quelli dell'orecchio freddo.

Siccome poi la misurazione dei diametri degli elementi cellulari, fatta tanto a fresco quanto su pezzi fissati e sempre tolti da punti simmetrici dei due orecchi, non mi diede alcuna differenza in più a favore degli elementi cellulari appartenenti all'orecchio riscaldato, devesi ritenere che la temperatura esterna di $+37°$, oltre all'aver favorita l'attività rigenerativa degli elementi cellulari, abbia anche validamente eccitati questi ultimi alla produzione di sostanza intercellulare.

Osservazione II.

In questa osservazione mi servii dello stesso coniglio adoperato nella precedente; coniglio che il 17 aprile presentava l'orecchio destro 13 mm. più corto del sinistro.

Dopo 3-4 giorni dacchè il coniglio venne messo in libertà, si avverte, già ad occhio, che la differenza in lunghezza fra i due orecchi comincia a diminuire; ed infatti, mentre il 17 aprile l'orecchio sinistro misurava in lunghezza cm. 8,8 ed il destro 7,5, il 21 aprile l'orecchio sinistro misura cm. 8,8 ed il destro cm. 7,9. Nei giorni successivi si nota sempre un leggiero ma graduale aumento dell'orecchio destro, mentre il sinistro pare arrestato nel suo sviluppo.

Il 1° maggio l'orecchio sinistro misura in lunghezza cm. 8,9, il destro cm. 8,3. Vengono asportati simmetricamente dai due orecchi dei pezzettini di padiglione per l'esame microscopico dei tessuti.

Il 20 maggio l'orecchio sinistro misura in lunghezza cm. 9, il destro 8,7.

Il 22 maggio vien rimesso il coniglio nello stesso apparecchio già usato per la prima osservazione; ma vengono invertite le temperature per modo, che l'orecchio destro più corto si trova esposto ad una temperatura costante di $+38°$, ed il sinistro ad una di $+11°$.

L'animale viene tenuto nel termostato fino al 4 giugno, lasciandogli soltanto 4 ore di libertà per giorno; sicchè vi rimane complessivamente circa 220 ore. Le sue condizioni di salute sono sempre ottime, quantunque in questi ultimi giorni non si noti un sensibile aumento nel peso del suo corpo.

Si nota invece che l'orecchio destro più corto va sviluppandosi

più del sinistro per modo, che il 27 maggio ambedue gli orecchi misurano una eguale lunghezza di cm. 9.

Il 4 giugno l'orecchio destro apparisce evidentemente più sviluppato del sinistro, e supera questo in lunghezza di mm. 4.

Si asportano dei pezzettini da punti simmetrici delle due orecchie per l'esame microscopico.

Tralascio di riferire quanto risguarda la tecnica seguita nel trattamento dei pezzi raccolti nelle diverse epoche dagli orecchi di questo coniglio, perchè dovrei ripetere quanto ho detto nella precedente osservazione; e così pure, ad evitare soverchie lungaggini, ometto i risultati delle singole osservazioni microscopiche, limitandomi a riportarne il risultato complessivo.

Nei pezzi raccolti il 1° maggio, cioè 14 giorni dopo che il coniglio era stato messo in libertà, il numero delle figure cariocinetiche è maggiore nei tessuti dell'orecchio destro che non in quelli dell'orecchio sinistro; anche qui però, per ragioni identiche a quelle riferite nella precedente osservazione, devesi attribuire agli elementi cellulari dell'orecchio destro una più attiva produzione di sostanza intercellulare.

In questo caso, essendo il coniglio in libertà e le sue orecchie nelle medesime condizioni di temperatura ambiente, la ragione della maggiore attività funzionale degli elementi appartenenti all'orecchio destro, e quindi del più rapido accrescimento di quest'ultimo in confronto del sinistro, anzichè nell'influenza della temperatura, deve evidentemente ricercarsi nelle complesse e meravigliose leggi, che regolano la nutrizione e mantengono l'equilibrio nell'accrescimento e nelle successive evoluzioni dei varî organi che compongono l'organismo in via di sviluppo.

L'esame dei pezzi raccolti il 4 giugno diede risultati del tutto analoghi a quelli poc'anzi ricordati.

Osservazione III.

Un coniglio giovane di 40 giorni, viene messo nel termostato il 24 maggio: l'orecchio destro vien mantenuto ad una temperatura costante di $+10^{\circ}$, il sinistro ad una di $+38^{\circ}$.

Le orecchie del coniglio prima dell'esperimento erano egualmente sviluppate, ed ambedue, dal vertice del cranio al loro apice, misuravano una lunghezza di cm. 6,3.

In 12 giorni, detratte le ore di libertà, l'animale rimase nell'ap-

parecchio per ore 190 circa; godette sempre ottima salute ed aumentò in peso di circa grm. 70.

Durante questo tempo l'orecchio sinistro riscaldato andò man mano aumentando nei suoi diametri più del destro, cosicchè il 4 giugno, mentre l'orecchio destro misurava in lunghezza cm. 6,5, il sinistro ne misurava 7,4 circa (vedi fig. tratta dalla fotografia); vale a dire, l'orecchio sinistro superava il destro in lunghezza di circa mm. 9.

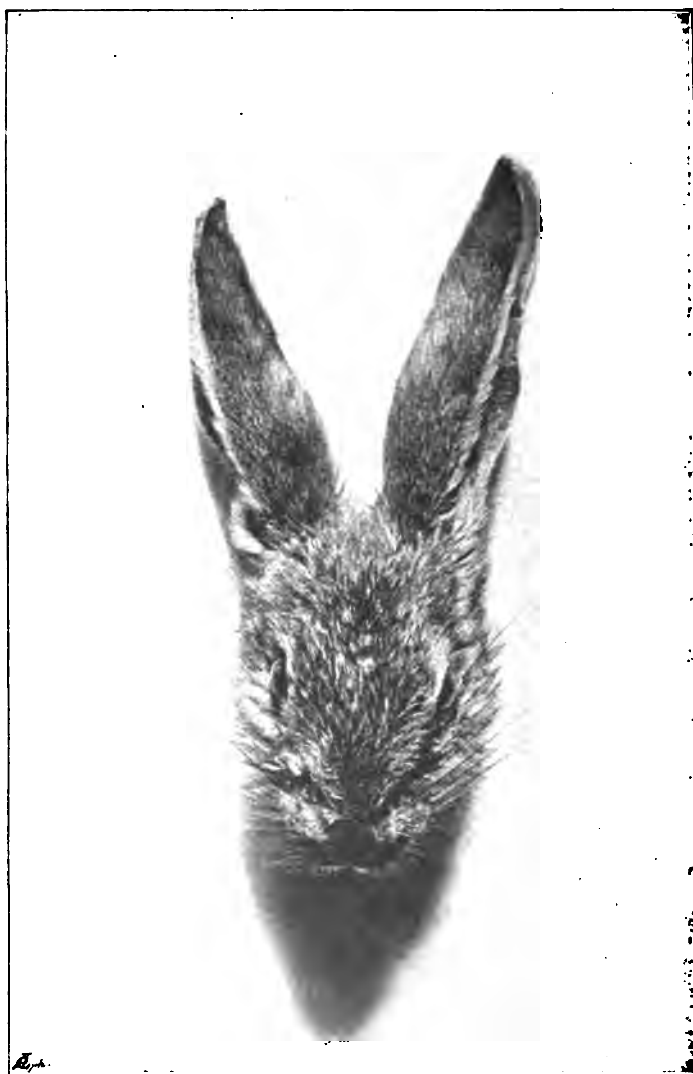
L'esame microscopico di pezzetti asportati da punti simmetrici dei due orecchi, mi condusse alle stesse conclusioni che nei casi precedenti, vale a dire: che le maggiori dimensioni raggiunte dall'orecchio sinistro erano dovute ad una esagerata funzionalità dei suoi elementi cellulari; funzionalità ch'essi esplicarono con una più attiva loro moltiplicazione, e, sopratutto, con una più copiosa produzione di sostanza intercellulare.

Dopo due giorni di libertà il coniglio viene rimesso nello stesso termostato ma con le temperature invertite per modo, che l'orecchio destro meno sviluppato si trova ad una temperatura di $+38^{\circ}$, ed il sinistro più sviluppato ad una di $+10^{\circ}$.

Dal 6 al 15 giugno il coniglio rimase complessivamente nell'apparecchio 190 ore, mantenendosi sempre in buone condizioni di salute.

In questo tempo, mentre l'orecchio sinistro quasi si arrestò nel suo sviluppo, il destro andò man mano aumentando nei suoi diametri, finchè il 15 giugno i due orecchi appariscono perfettamente eguali e misurano ambedue una eguale lunghezza di cm. 7,6 circa.

L'esame microscopico dei tessuti appartenenti ai due orecchi, fatto su pezzetti raccolti il 15 giugno, ha dato risultati diametralmente inversi, ma analoghi a quelli dell'esame microscopico or ora menzionato.



Coniglio giovanissimo, che dopo esser stato esposto per 190 ore con l'orecchio destro ad una temperatura di + 10° e col sinistro ad una di + 38°, presenta quest'ultimo maggiormente sviluppato.
(3/4 del naturale. Da una fotografia).

Riassumendo brevemente i risultati delle ricerche fin' ora esposte, si ha:

I. Che nel coniglio adulto, una temperatura dell'ambiente esterno relativamente elevata (per es. + 38°), rende più attivi i processi rigenerativi dell'epitelio, mentre non basta a ridestare negli elementi cellulari del tessuto congiuntivo e cartilagineo quell'attività rigenerativa, che loro apparteneva durante il periodo di sviluppo. Il freddo ostacola anche la rigenerazione dell'epitelio.

In altri termini, questo significa che una temperatura elevata entro certi limiti (per es. +38°) favorisce nel coniglio adulto i processi fisiologici di rigenerazione cellulare, mentre i medesimi restano ostacolati dalle temperature basse (per es. + 10°).

II. Che nei conigli giovani, ancora in via di sviluppo, una temperatura di + 38° accelera l'accrescimento dei tessuti favorendone la moltiplicazione degli elementi cellulari e la produzione di sostanza intercellulare da parte di questi ultimi, mentre il freddo produce un effetto contrario.

Questi risultati trovano riscontro nelle osservazioni sperimentali fatte sullo stesso argomento, ma su animali inferiori, principalmente dal De Reaumur, dallo Spallanzani e dal Barfourth.

Il primo (1) di questi autori aveva trovato, nelle tepide serre dei giardini di Luigi XV, il mezzo per ottenere durante l'inverno lo sviluppo delle farfalle dalle crisalidi; e così, com'egli dice, accorciare la vita di questi insetti accelerandone lo sviluppo a mezzo del calore; nel freddo invece, aveva trovato il mezzo per raggiungere l'effetto contrario.

Spallanzani (2) parlando della riproduzione della coda nei girini, dice: « Dopo il taglio, se i girini sono d'età acerba, prestissimo manifestasi la riproduzione. In un giorno di estate

(1) De Reaumur, « Mémoires pour servir à l'Histoire des insectes », Paris, 1736, tomo II, pag. 8 e seg.

(2) Spallanzani, « Prodromo di un'opera da imprimersi sopra le riproduzioni animali », Modena, 1768, pag. 37.

fa un progresso rapidissimo e in poco tempo la porzione riprodotta non solo eguaglia la tagliata, ma questa coda parte vecchia, e parte nuova, eguaglia eziandio in estensione la coda dei girini contemporanei non mutilati »..... « ma se i girini sono assai adulti, tarda più a palesarsi il principio della riproduzione e questa cresce in parità di cose più lentamente ». Parlando poi (1) delle riproduzioni nelle salamandre dice: « quasi una metà dell'anno, cioè nella stagione invernale, cessa la salamandra di riprodurre », e più oltre (2) ancora dice: « E siccome da aprile fino al termine di settembre manifestasi la forza del riprodurre..... ».

Adunque, le diligenti osservazioni dello Spallanzani, oltre di aver assodato che la temperatura calda e la giovane età sono due condizioni che favoriscono di molto la riproduzione delle estremità negli anfibi da lui studiati, avevano anche potuto rilevare come nei girini cui aveva amputata la coda, il moncone di questa e la parte riprodotta si sviluppassero così rapidamente da raggiungere in poco tempo le dimensioni che avrebbe raggiunta la coda primitiva ove non fosse stata tagliata.

Con quest'ultima sua osservazione trova analogia il fatto che nei conigli giovani, cui, approfittando del metodo seguito nelle mie ricerche, siasi fatto sviluppare un orecchio più dell'altro, l'orecchio più corto, appena l'animale sia messo in libertà, rapidamente si sviluppa e raggiunge quelle dimensioni che avrebbe già prima raggiunte, ove una troppo bassa temperatura non l'avesse arrestato nel suo sviluppo (3).

Barfourth (4), che nei suoi recenti lavori ebbe l'occasione

---

(1) Spallanzani, lav. cit., pag. 80.

(2) Spallanzani, lav. cit., pag. 96.

(3) Vedi indietro, paragrafo *C*, osservazione 2ª.

(4) Barfourth, « Versuche über die Verwandlung der Froschlarven (*Arch. f. Mikroskopische Anat.*, Bd. 24).

— « Versuche zur functionelle Anpassung » (*Arch. f. Mikroskopisch Anat.*, Bd. 37).

— « Zur Regeneration der Gewebe » (*Arch. f. Mikroskopische Ana* Bd. 37).

di ripetere alcune delle osservazioni già fatte dallo **Spallanzani**, nota pure quanta sia l'influenza che la temperatura esercita sullo sviluppo e sui processi di rigenerazione di alcuni anfibi; anzi fra le conclusioni di uno (1) dei suoi lavori, trovo anche questa: « Die Regeneration selber erfolgt um so schneller, je höher die Temperatur ist ».

II.

Influenza della temperatura sui processi di rigenerazione conseguenti a ferite.

Per amore di brevità non mi fermerò ad esporre minutamente tutte le ricerche da me instituite a questo proposito, ma mi limiterò soltanto a riferirne due, le quali, ripetute più volte e sempre col medesimo risultato, mi autorizzano a ritenere come costante, almeno nelle specie di ferite da me studiate, la favorevole influenza esercitata dal calore sul processo di riparazione.

a) *Ferite del padiglione dell'orecchio nei conigli.*

Per questo studio mi valsi di due aperture, ossia ferite con perdita di sostanza, praticate (seguendo le cautele antisettiche) della medesima grandezza e forma, una per ciascun orecchio di uno stesso coniglio, e su punti, che per i loro rapporti di vicinanza coi grossi vasi potevano dirsi del tutto corrispondenti.

Un coagulo quasi filiforme che si forma lungo il margine della ferita, ne arresta dopo pochi momenti l'insignificante emorragia; il coniglio vien messo nell'apparecchio con le orecchie entro le apposite guaine previamente disinfettate.

Uno degli orecchi vien tenuto costantemente ad una temperatura che oscilla fra i + 7° e i + 9°, l'altro ad una oscillante fra i + 37° e i + 39°.

(1) **Barfourth**, « Versuche zur functionelle Ampassung. », lav. cit., p. 405

Poche ore dopo (5-10) si nota un rossore vivo ed esteso intorno alla ferita mantenuta al caldo, mentre nell'altra non si nota alcun cambiamento. Quanto al resto del padiglione, esso presenta i caratteri d'una leggiera iperemia attiva nel lato caldo, e quelli dell'ischemia nel lato freddo.

Dopo 36-48 ore dalla ferita, nel lato caldo si rileva un notevole turgore dei margini feriti, che appariscono rosei e lucidi; il coagulo essicato assieme alle minime particelle di tessuto direttamente mortificate dallo strumento feritore, costituisce una sottile crosticina che segna come con una linea bruna il margine della ferita. Nel resto dell'orecchio, oltre alla persistente leggiera iperemia, si nota una desquamazione forforacea dell'epidermide.

Nello stesso periodo, ma nel lato freddo, si vedono i lembi cutanei della ferita notevolmente retratti; cosicchè il lembo cartilagineo interposto, rimasto a nudo si essica e costituisce insieme al coagulo primitivo una specie di crosta necrotica saldamente unita ai margini della ferita.

La notevole differenza nell'aspetto delle due ferite in tale epoca, devesi evidentemente attribuire alle diverse condizioni in cui si trovano nei due orecchi la circolazione sanguigna e gli intimi processi del ricambio materiale, diversamente influenzati dalla temperatura.

In 7ª-8ª giornata, mentre dal lato freddo non si notano macroscopicamente ulteriori cambiamenti, nel lato caldo invece può già staccarsi con tutta facilità la sottile crosticina che copre la ferita, e sotto si vede come il bordo ferito della pelle esterna già aderisca al bordo ferito della pelle interna, ricoprendo l'interposta cartilagine con giovane tessuto di cicatrice protetto dal rivestimento epidermoidale.

Le figg. 4ª-5ª riproducono a debole ingrandimento l'immagine microscopica di due sezioni condotte in piano trasversale ai margini delle ferite (trasversale anche rispetto all'asse longitudinale degli orecchi); tutte e due sono tolte dallo stesso animale a 10 giorni dalla ferita, ma la prima viene dall'orecchio mantenuto costantemente alla temperatura di circa +38°.

la seconda da quello tenuto a circa +8°. Risalta a prima vista, quanto il processo riparatore sia stato favorito dalla temperatura di +38°.

L'esame microscopico mostra come dal lato freddo, il margine ferito, che comprende tutto lo spessore del padiglione dell'orecchio, sia completamente necrotico. Una notevole infiltrazione di leucociti segna la linea di demarcazione fra la parte viva e la parte morta; quest'ultima però la si vede ancora saldamente unita alla viva, non essendosi raggiunto nel tessuto interposto, quel grado di disgregazione che si richiede per il suo distacco. Inoltre nella parte viva, manca ogni accenno di processo riparativo.

Dal lato caldo invece, l'esame microscopico mostra come il lembo cartilagineo, punto necrotico, sia coperto da un grosso strato di giovane tessuto congiuntivo, ricco di elementi cellulari e di vasi neoformati. Il rivestimento epidermoidale è completo, e negli elementi cellulari che ne compongono gli strati profondi, si vedono numerose figure cariocinetiche, che attestano la sua attività riparatrice.

b) *Fratture semplici di ossa lunghe.*

Mi servirono bene le fratture semplici praticate simmetricamente nei due metacarpi medii, oppure nelle ulne di uno stesso coniglio.

Le prime si ottengono con tutta facilità piegando le delicate ossicina fra le dita, ma offrono spesso l'inconveniente dell'accavallamento dei monconi. Le seconde, nei conigli di 3-4 mesi, si ottengono pure adoperando le sole mani, come il Bajardi (1) ebbe a notare; ed hanno sopra le altre il vantaggio che il radio funzionando da ferula, impedisce lo spostamento dei monconi. Moderando convenientemente lo sforzo, si riesce di praticare con tutta facilità simmetricamente nei due avambracci di uno stesso coniglio, la frattura dell'ulna, semplice, senza spostamento e sottoperiostea.

(1) D. Bajardi, « Sulla formazione e sulla riduzione del callo nelle fratture delle ossa lunghe », Torino, 1879, p. 11.

Una volta messi nell'apparecchio, i conigli non ne venivano tolti che al momento di raccogliere i pezzi destinati allo studio, ciò che in qualche caso feci anche dopo 15 giorni dalla frattura. Gli animali costretti per tutta la durata dell'esperimento ad una costante e quasi completa immobilità, si conservarono sempre in buone condizioni generali di salute.

Le temperature costanti cui furono esposti gli arti fratturati, oscillarono per tutti i casi intorno agli $+11°$ per la parte fredda, intorno ai $+38°$ per la parte calda.

I pezzi destinati all'esame microscopico venivano tolti dall'animale appena ucciso e tosto fissati con liquido del Flemming; successivamente li decalcificava con soluzione acquosa di acido cromico 1 $^0/_0$, con l'aggiunta di ac. cloridrico 1/2 $^0/_0$ di soluzione cromica.

Ottenuta la decalcificazione e dilavati i pezzi in acqua corrente per 12-15 ore, questi venivano passati per la serie graduale degli alcool e successivamente impregnati in celloidina e tagliati al microtomo. Questo metodo, benchè poco spiccio, è quello che, secondo la mia esperienza, meglio conviene quando si voglia studiare l'assieme dei mutamenti che si succedono nel periostio, nel midollo e nelle altre parti molli contigue alla frattura.

In qualche caso, dove, nei pezzi raccolti un paio di giorni dopo la frattura, voleva confrontare più precisamente l'attività rigenerativa del periostio appartenente all'arto riscaldato con quella del periostio dell'arto raffreddato, ho seguito il metodo consigliato dal Krafft (1), che consiste nel fissare il periostio isolato dall'osso ancora vivente. Così si evita l'immersione prolungata del periostio nei liquidi decalcificatori, ed inoltre si può usare meglio l'impregnazione con paraffina, preferibile a quella con celloidina per avere sottili sezioni del tessuto.

Come sostanze coloranti, oltre ai preparati di carmino, al

---

(1) Krafft E., « Zur Histogenese des periostalen Callus » (*Beiträg zur pathol. Anat. und Physiologie*. Jena, 1884, Heft. I).

l'ematossilina ed ai metodi di colorazione combinati, ho adoperato con buon risultato la soluzione acquosa satura di saffranina, nella quale lasciava le sezioni per 12-14 ore; le decolorava poi con alcool assoluto leggiermente picrico e le rischiarava con olio di bergamotto.

Ecco quanto complessivamente ho potuto constatare, confrontando in periodi successivi il decorso del processo di riparazione delle fratture trattate col freddo con quello delle fratture trattate col caldo.

Dopo 48 ore, quando con l'esame esterno si rilevano egualmente bene così nell'arto raffreddato come in quello riscaldato i sintomi proprî alla frattura recente, l'esame anatomico macro e microscopico permette già di constatare nei due arti tenuti a temperatura diversa qualche differenza nelle prime modificazioni, che succedono in questo periodo sia nei materiali versatisi nel campo della frattura, sia nella struttura dello strato profondo del periostio.

Nell'uno e nell'altro arto in corrispondenza della frattura, si vedono abbondantissimi globuli rossi del sangue alterati nella loro forma ed in parte ridotti a detrito, ed ammassi di fibrina disposti a reticolo nelle cui maglie stanno numerosi leucociti e cellule adipose, quest'ultime provenienti dal midollo lacerato. Ma mentre nel lato freddo, l'aspetto di queste parti corrisponde a quello di fatti recenti e non si osserva alcuna reazione nei tessuti circostanti, nel lato caldo invece si scorgono già iniziate quelle modificazioni che sogliono ulteriormente osservarsi in tali casi.

Infatti, nel lato caldo, nei tessuti periferici alla massa stravasata, insieme ad una reazione irritativa, si osserva una ricca infiltrazione di leucociti, gran parte dei quali presentano nel loro protoplasma dei granuli di detrito probabilmente derivati dal disfacimento dei globuli rossi del sangue stravasato, e dalle goccioline adipose derivanti dalla lacerazione del midollo; inoltre, grossi leucociti carichi di detrito o di grasso si vedono qua e là nei tessuti periferici e nelle grosse vene del midollo anche ad una certa distanza dal punto di frattura.

Collegando queste osservazioni al fatto che nel lato caldo già macroscopicamente si vede ridotto il volume della massa stravasata, se ne deve inferire che mentre questa nel lato freddo non ha subita alcuna modificazione, nel lato caldo, invece, essa si trova già in preda al processo di riassorbimento.

Ma ben più spiccata apparisce l'influenza della temperatura sulla formazione del callo, quando nella stessa epoca (48 ore dopo) si esamini il periostio contiguo al punto di frattura nel lato caldo e nel lato freddo.

In ambedue i lati, in vicinanza del punto fratturato, la piccola porzione del periostio, che per effetto del trauma si è scollata dall'osso, resta così infiltrata da globuli rossi del sangue e da cumuli di fibrina, che quasi si sottrae all'osservazione. Questa infiltrazione che, perdendo man mano della sua intensità, si estende nello strato esterno del periostio fino a qualche distanza dal campo di frattura, apparisce sempre meno spiccata nel lato caldo che non in quello freddo, perchè, come si è detto, nel lato caldo lo stravaso in quest'epoca trovasi già in via di riassorbimento.

Lo strato profondo del periostio, che nell'arto freddo vedesi ancora inalterato, presenta invece nell'arto tenuto al caldo un considerevole aumento numerico dei suoi elementi cellulari, dovuto alla moltiplicazione per scissione cariocinetica di quelli preesistenti.

Ancora maggiore apparisce la differenza nel grado di guarigione fra la frattura trattata col caldo e quella trattata col freddo se, anzichè dopo 48 ore, queste si confrontino dopo 3-4 giorni. In questo caso, mentre con l'esame esterno dell'arto fratturato si rilevano sempre in quello mantenuto a + 12° tutti i sintomi proprî ad una frattura recente, nell'arto corrispondente, mantenuto a + 38°, soffregando leggiermente fra loro i due monconi ossei ancora mobili, non riesce più di rilevare lo scroscio caratteristico, mentre riesce di palpare un ingrossamento fusiforme che li unisce.

All'esame anatomico, mentre non si vede esser intervenuta alcuna modificazione nella frattura tenuta a + 12°, si vede,

in quella tenuta a + 38°, ancora maggiormente ridotto il volume della massa stravasata e di più si constata un ingrossamento fusiforme d'aspetto gelatinoso, che circonda la frattura e si perde a poco a poco nelle parti molli circostanti. (Vedi figg. 6ª-7ª).

Con l'esame microscopico non riesce di rilevare neppure in questo periodo alcuna modificazione nella frattura tenuta al freddo (fig. 8ª), mentre in quella tenuta al caldo si vede il processo di riparazione ben progredito.

Infatti, la massa stravasata è rappresentata da piccoli residui che occupano la fenditura della discontinuità ossea, e tutto intorno a questi residui si vede una notevole massa di giovane tessuto congiuntivo con qualche isola cartilaginea. Questa massa di congiuntivo, che otturando l'apertura del canale midollare e riunendo le estremità dei monconi ossei occupa il campo della frattura, si fonde perifericamente con gli strati esterni del periostio ispessito; ed infiltrando i tessuti molli circostanti, contribuisce alla formazione dell'ingrossamento fusiforme poc'anzi accennato.

Anche lo strato osteogenico del periostio, esaminato in vicinanza del piano di frattura, ci fa vedere oramai ben avviata la formazione del callo osseo periosteo. Si vede (fig. 9ª) la corteccia dell'osso stare in continuità con una quantità di grosse trabecole ossee neoformate, che, rivestite da osteoblasti, si avanzano nello strato osteogenico anastomizzandosi fra loro e circoscrivendo i primi spazi midollari del callo.

Le cellule dello strato osteogenico che sono a contatto della zona osteoide, si presentano rotondeggianti o poligonali e sono divise fra loro da sottili trabecole di sostanza fondamentale calcificata; quelle invece che sono più vicine allo strato fibroso del periostio sono ovalari o fusiformi e cementate da congiun-vo nettamente fibrillare.

Anche nel midollo, lungo la superficie interna dell'osso, si nota la presenza di uno strato di cellule fusiformi o rotondeggianti, delle quali quelle aderenti all'osso, hanno l'aspetto di veri osteoblasti. Questo strato di cellule s'ingrossa verso il

piano di frattura, dove si fonde con la massa di tessuto congiuntivo-cartilagineo che ne occupa il campo.

In 7ª-8ª giornata, quando ancora l'esame macroscopico non permette di scorgere alcun progresso nella guarigione della frattura tenuta al freddo, la ricerca microscopica vi rivela soltanto un leggiero ispessimento dello strato profondo del periostio dovuto all'aumento numerico dei suoi elementi cellulari: il che vuol dire, che nella frattura tenuta al freddo, soltanto dopo 7-8 giorni incominciano a manifestarsi nella struttura del periostio quelle modificazioni, che sono il primo accenno alla formazione del callo.

Nella stessa epoca, ma nella frattura tenuta al caldo, i monconi ossei sono già saldamente uniti dal callo provvisorio, che l'esame microscopico dimostra aver pressochè raggiunta la sua completa formazione.

Per economia di tempo e per la difficoltà di prolungare le mie esperienze fino alla completa formazione e riduzione del callo permanente, non ho estese le mie osservazioni anche alle fasi che fanno seguito alla formazione del callo provvisorio. Tuttavia, parmi che i risultati sopra esposti, frutto di numerose e ripetute osservazioni, sieno sufficienti per autorizzarmi ad affermare che le temperature esterne relativamente basse (+10°, +12°) ritardano notevolmente la guarigione delle fratture, mentre la stessa viene notevolmente favorita da una temperatura dell'ambiente relativamente elevata (+37°, +39°).

Questi risultati, adittandoci nel calore un mezzo che ha tanta influenza sui processi riparativi delle ferite, non possono dirsi privi d'interesse pratico.

Che l'applicazione del caldo favorisca i processi riparativi in discorso, è cosa praticamente nota già da tempo: i vecchi oculisti usavano su larga scala i fomenti caldi d'infuso di camomilla, ed anche oggi troviamo prescritti i fomenti d'acqua calda ogni volta che si tratti di attivare processi torpidi delle parti esterne dell'occhio e condurli presto alla risoluzione.

Nella chirurgia generale invece, la medicazione calda non viene usata, per quanto io mi sappia, che in quei casi nei quali per insufficienza della circolazione sanguigna, resta direttamente compromessa l'esistenza di una parte.

Il Billroth (1), per es., a proposito della cura delle ferite contuse « con estesissimi pestamenti e lacerazioni delle parti molli, con grandi cavità riempite di stravasi sanguigni, ecc. » raccomanda l'applicazione del caldo umido. « Questo — egli dice — possiede una innegabile influenza sulla circolazione che ne è immediatamente favorita; l'arrossimento e la gonfiezza edematosa nei margini della ferita, che già esistevano prima della medicatura, diminuiscono sollecitamente; viene facilitato il riassorbimento degli stravasi e lo sviluppo del tessuto di granulazione, ecc. ».

Recentemente il Mc. Jntosh (2) ebbe a deplorare in una sua pubblicazione lo scarso uso che si fa della medicazione all'acqua calda nella cura delle ferite; medicazione ch'egli reputa specialmente vantaggiosa per questo che il calore agendo sui nervi e vasi della parte ammalata, ne ristora il tono dei vasomotori e previene o toglie la stasi venosa, impedendo così la eccessiva fuoruscita di liquido e di leucociti dai vasi contratti. L'autore conforta la sua pubblicazione coll'esporre particolareggiatamente tre casi di gravissime lesioni chirurgiche, nei quali l'irrigazione continua di acqua riscaldata a temperatura tollerabile dal paziente, apportò rapida ed insperata guarigione; in due di essi ebbe a constatare clinicamente come la medicazione calda affretti di molto la formazione del callo nelle lesioni ossee.

Ora, dopochè per queste mie ricerche resta dimostrato sperimentalmente come la temperatura eserciti una influenza favorevole sul processo di rigenerazione cellulare conseguente le ferite, non parrà fuori di luogo la mia proposta di man-

---

(1) T. Billroth ed A. Winiwarter, « Patologia e terapia chirurgica nerale ». Trad. italiana sulla 12ª tedesca. Napoli. Lezione 14.

(2) Mc. Intosh, « Hot water in the treatment of surgical lesions » New York Med. Journal. Saturday 28 February 1891).

tenere le medesime in un ambiente riscaldato ad una temperatura tollerabile dal paziente.

Che se la poca tolleranza dell'ammalato per un apparecchio capace di raggiungere questo scopo, potrà indurre il chirurgo a rinunciare ai vantaggi che ne verrebbero dalla sua applicazione in tutti quei casi nei quali la odierna medicazione antisettica garantisce già una sollecita guarigione, altrettanto non potrà dirsi per quelle lesioni chirurgiche la cui guarigione resta difficultata od anche impedita dalle cattive condizioni generali del paziente (per es. ritardata formazione del callo, ecc.). Sono convinto che in questi casi la razionale applicazione del caldo darà al chirurgo ottimi risultati.

CONCLUSIONI.

I. Negli animali superiori adulti le temperature basse (+10°, +12°) ritardano notevolmente i processi fisiologici di rigenerazione cellulare, mentre i medesimi vengono favoriti dalle temperature dell'ambiente esterno relativamente elevate (+37°, +40°).

Non pare che per l'influenza costante e prolungata del caldo, possa manifestarsi l'attività rigenerativa nei tessuti i cui elementi cellulari adulti ne sono privi.

II. Negli animali giovani in via di sviluppo, l'accrescimento dei tessuti, dovuto sia alla moltiplicazione degli elementi cellulari, sia alla produzione di sostanza intercellulare per parte di questi ultimi, è potentemente favorito dalle temperature oscillanti fra i +37°, +40°; mentre resta ostacolato da quelle oscillanti intorno ai +10°, +12°.

III. I processi di rigenerazione cellulare, ed in generale tutti quelli conseguenti a ferite, vengono validamente favoriti dalle temperature dell'ambiente esterno che si avvicinano a quella del corpo, mentre restano ritardati da quelle oscillanti intorno ai +10°.

Spiegazione delle Figure.

FIGG. 1, 2 e 3. — Termostato.

a, Tetto del manicotto contentivo.
b, Pavimento dello stesso.
c, Assicella funzionante da piano inclinato.
d, Assicelle che impediscono al coniglio l'adduzione delle zampe posteriori.
e, Cuneo di legno.
f, Cassette metalliche.
g, Tubulatura che serve per introdurre l'acqua nelle cassette metalliche.
h, Guaine metalliche che accolgono gli orecchi del coniglio.
i, Termometri.
l, Termoregolatore sist. Reichert.
m, Assicella che impedisce al coniglio di scivolare all'indietro.
n, Parete laterale fissa del manicotto.
o, Parete laterale mobile dello stesso.
p, Cuscinetti di legno.
q, Tramezzo di legno fra le due cassette metalliche.
r, Lampada a gaz.
s, Tubulatura laterale che permette l'entrata all'acqua fredda nella cassetta refrigerante.
t, Tubulatura che scarica l'acqua dalla stessa.
u, Telaio di legno che sostiene il termostato.
($^1/_{10}$ del naturale).

FIGG. 4ª e 5ª.

Margini di ferite del padiglione dell'orecchio nel coniglio.
a, Sezione trasversa della pelle esterna del padiglione.
b, Sezione trasversa della pelle interna del padiglione.
c, Cartilagine intermedia.
d, Sezione trasversa del margine della ferita.

Nella fig. 4ª, tratta dall'orecchio esposto per 10 giorni a +38°, si vede la sezione trasversa del margine (*d*) della ferita, già guarita per una cicatrice di giovane tessuto congiuntivo completamente protetto dal rivestimento epidermoidale.

Nella fig. 5ª, tratta dall'orecchio opposto, tenuto per 10 giorni a +8°, si vede il magine (*d*) della ferita completamente necrotico: una ricca infiltrazione di leucociti segna la linea di demarcazione fra la parte viva e la parte morta.

(Oculare 1. Obb. 4. Hartn.).

FIGG. 6ª e 7ª.

Sezione longitudinale delle due ulne di uno stesso coniglio, dopo 4 giorni dalla frattura. Fig. 6ª lato freddo, Fig. 7ª lato caldo.

a, Sezione longitudinale dei monconi ossei.
b, Periostio ispessito nella frattura tenuta al caldo; in quella tenuta al freddo, il periostio è troppo sottile per apparire nel disegno.
c, Tessuti molli circostanti alla frattura.
d, Residui dello stravaso sanguigno.
e, Tumefazione fusiforme in corrispondenza del piano di frattura nel lato caldo.

(Due volte il naturale).

FIGG. 8ª e 9ª.

Sezione longitudinale del periostio delle due ulne di uno stesso coniglio, in vicinanza dal piano di frattura dopo 4 giorni dalla lesione. Fig. 8ª lato freddo, Fig. 9ª lato caldo.

a, Corteccia dell'osso.
b, Periostio.
c, Muscolatura.
d, Infiltrazione persistente nel periostio del lato freddo.
e, Strato osteogenico del periostio nel lato caldo.
f, Strato fibroso del periostio nel lato caldo.
g, Vasi sanguigni.

(Oculare 3. Obb 8. Hartn.).

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 8.

Istituto d'Igiene in Monaco di Baviera.

LA GELATINA

COME REAGENTE PER DIMOSTRARE LA PRESENZA DELLA TRIPSINA E DI ENZIMI CONSIMILI

DEL DOTTOR

Claudio FERMI

Per dimostrare la presenza di enzimi proteolitici non si ebbe fino ad ora che la fibrina. Questo reagente per altro lascia molto a desiderare in sensibilità. Se anche la suddetta può servire per constatare fermenti energici, i quali agiscono specialmente in presenza di acidi, ciò non è però il caso per deboli fermenti triptici. La grande maggioranza degli enzimi triptici, i quali si trovano così largamente diffusi nel regno animale non può venire sicuramente dimostrata colla fibrina. Lo stesso valga per la tripsina e la papaina stessa, quando esse si siano in un modo qualunque indebolite.

I due criteri dai quali si deduce che un enzimo proteolitico ha agito sulla fibrina sono, come è noto, la soluzione della stessa (fibrina) e la sua trasformazione in peptone. Ora avviene spesso che i detti due criteri non si riscontrino affatto siano molto incerti.

Può accadere cioè che da una parte la fibrina sottoposta azione di questi fermenti non si sciolga affatto o molto perfettamente e dall'altra che la prova del Biuret non dia a reazione degna di fede.

Che la fibrina non sia un reagente sicuro lo si rileva poi del resto chiaramente anche dalle incertezze e dalle contraddizioni che si incontrano in molti lavori sull'argomento.

L'uno scrive, per es., di non aver trovato che traccia di quel dato fermento e l'altro di non averlo dimostrato costantemente.

Hoppe-Seyler (1), p. es., come egli stesso scrive, non è in caso di dimostrare il fermento nella *drosera rotundifolia* già da parecchi altri constatato. Lo stesso dicasi di Titschuckin (2) pel fermento della *pinguicula*. Krauch (3) nega l'esistenza del fermento peptonizzante già trovato da Schulze e Barbieri e da Gorup e Will nei *grani germoglianti*.

Escherich (4) non riuscì colle sue ricerche a confermare completamente i risultati di quelle di Stolmkow (5) tendenti a dimostrare la presenza di enzimi proteolitici nelle espettorazioni in parecchie affezioni polmonari.

Grützner, Gehring (6) e Sahli (7) trovano la tripsina nell'urina, mentre che Walter Leo (8), Hans Leo (9), Hoffmann (10), Stadelmann (11) ed altri non riescono a dimostrarvene traccia.

Io ho trovato ora un reagente molto più sensibile e sicuro

---

1) Hoppe-Seyler, *Jahresber. d. Thierchemie*, VI, 169, 1876.

(2) Titschuckin, « Die Rolle der Bacterien bei der Veränderung der Eiweissststoffe auf den Blättern von Pinguicula » (*Ber. der d. bot. Ges.*, Bd. VII, S. 346-355).

(3) Krauch, *Landwirthsch. Versuchsstation*, 27, 382. « Ueber peptonbildende Fermente in den Pflanzen ».

(4) Escherich, *Deutsche Arch. f. kl. Med.*, 37, 169, 200.

(5) Stolmkow, *Petersburger med. Wochenschrift*, 1878, N. 9.

(6) Gehring, *Archiv f. d. ges. Phys.*, 1886, XXXVIII, I, Th. XV, 267.

(7) W. Sahli, *Arch. f. d. ges. Phys.* 1886, XXXVI, 209-229.

(8) W. Lev, « Uber das Schicksal des Trypsins und Pepsins im Organismus » (*Pflüger's Arch.*, XXXVII, 223).

(9) H. Leo, « Zur Trage der Trypsinausscheidung durch den Harn, etc. » (*Pflügers Arch.*, XXXIX, 246-264).

(10) H. Hoffmann, « Uber das Schicksal einiger Fermente im Organismus » (*Pflüger's Arch.*, XXXXI, 148-176).

(11) Stadelmann, « Ueber Fermente im Harn » (*Zeitschr. f. Biologie*, XXIV, 226-260).

della fibrina, e questo è, secondo le mie ricerche, la *gelatina*.

La gelatina a contatto con un fermento proteolitico si scioglie se è solida, e se è fluida non si solidifica più.

Colla gelatina si possono dimostrare fermenti debolissimi anche in minime quantità (tripsina 1 su 40000).

Colla medesima, a differenza di quello che accade colla fibrina, basta il puro criterio dello scioglimento, imperocchè solamente traccie di fluidificazione sono sufficienti a dimostrare, con tutta certezza, la presenza del fermento. Il criterio della peptonizzazione è qui inutile.

Il metodo è semplicissimo: si riempie una provetta con 5 o 10 ccm. di gelatina sciolta, e quando questa è solidificata si versano nella medesima alcuni ccm. del liquido da esaminare. Se il medesimo contiene l'enzimo, allora la gelatina si scioglie a poco a poco in strati regolari e misurabili. Se invece dopo cinque o sei giorni non si è avverata traccia alcuna di fluidificazione, allora si può essere certi dell'essenza di fermenti nel liquido.

La gelatina in discorso si prepara in questo modo: Si sciolgono 5-10 grammi di gelatina pura (così detta gelatina d'oro) in 93 gr. di una soluzione acquosa di timolo o di acido salicilico o meglio di acido fenico, e poi si fa bollire. Ciò fatto si empiono con questa gelatina fludificata le provette (circa 10 cc. per provetta).

Affinchè la gelatina nelle medesime si solidifichi regolarmente, le si tengono in esatta posizione verticale. Volendo tener pronto un discreto numero di queste provette di gelatina, bisogna provvedere a che essa non si dissecchi nei tubi; questo si ottiene facilmente conservando i medesimi in una camera umida o pure tenendole semplicemente capovolte in n vaso che contenga un po' acqua.

Oltre che alla gelatina bisogna aggiungere anche al liquido a esaminare un po' di timolo, di acido salicilico od acido fe·co. L'aggiunta di un antisettico non si deve assolutamente alasciare, se si vuole impedire lo sviluppo di certi microbi,

i quali per mezzo dei loro enzimi proteolitici particolari sciogliendo la gelatina, ci condurrebbero a risultati falsi (1). Per rendere poi più visibili gli strati di gelatina fluidificata e per poterli anche all'occorrenza misurare si possono usare provette graduate, oppure degli ordinari tubi d'assaggio, nei quali prima dell'esperienza si marca il bordo superiore della gelatina.

Io faccio uso delle provette ordinarie segnando l'orlo della gelatina coll'etichetta. Affinchè poi la superficie della gelatina solida sia sempre visibile, si può colorare il liquido (p. es. colla fucsina), oppure si può colorare solamente la superficie della gelatina, per esempio versando nella provetta una traccia di carbone animale polverizzato, il quale deponendosi alla superficie della gelatina solida ne marca il bordo benissimo (2).

In queste ricerche bisogna tener presente poi quanto segue:

1) Le prove devono esser conservate ad una temperatura, la quale sia di alcuni gradi sotto al punto di liquefazione della gelatina. Si può anche benissimo tenere i tubi alla temperatura della stanza, in seguito alla qual cosa diviene inutile anche un termostato.

2) Non si devono aggiungere quegli antisettici, quelle sostanze, le quali da sole potrebbero sciogliere la gelatina, queste sarebbero, p. es., gli alcali e gli acidi a certo grado di concentrazione.

3) Non si aggiungeranno pure quelle sostanze ed al caso si allontaneranno, le quali potessero diminuire la solubilità della gelatina. Tali sostanze sarebbero, per es., i sali metallici, il tannino, la glicerina, ecc.

---

(1) L'aggiunta di un antisettico non è sempre invece indispensabile coll'uso della fibrina, poichè la medesima non reagisce in generale verso questi fermenti o molto debolmente. E d'altra parte l'acido salicilico, l'acido fenico e il sublimato disturbano spesso l'azione dei fermenti sulla fibrina.

(2) Bisogna aver riguardo di non versare nei tubi troppa polvere di carbone, perchè in questo caso potrebbe impedire l'azione dei fermenti sulla gelatina. Traccie invece del medesimo trascinando alla superficie della gelatina le molecole di fermento, ne favorisce l'azione.

Il tannino si unisce, come è noto, colla gelatina, e la rende completamente insolubile. Volendo ora per mezzo della gelatina ricercare enzimi proteolitici in vegetali sarà d'uopo allontanarne dapprima il tannino. La glicerina da parte sua attirando a sè l'acqua dalla gelatina, la prosciuga, l'indurisce e questa allora disciogliendosi irregolarmente, non permette più che se ne misuri lo strato sciolto. Per questa ragione si dovranno sempre esaminare estratti acquosi di fermenti e non mai estratti in glicerina. Per lo stesso motivo non si useranno tubi vecchi nei quali la gelatina si fosse per avventura in parte prosciugata.

4) Prima di esaminare i liquidi, dei quali si deve ricercare il fermento, bisogna filtrarli; perchè, se il liquido contiene sostanze sospese, la gelatina non si scioglie più regolarmente.

5) Sono da preferirsi provette di piccolo calibro (8-10 mm.), sia perchè così l'azione dei fermenti in seguito all'altezza maggiore degli strati di gelatina sciolta è più visibile, sia perchè a questo modo si possono esaminare quantità anche piccolissime di liquido (da $^1/_2$ ad 1 ccm.).

Volendo riassumere ora i vantaggi della gelatina sulla fibrina si può dire quanto segue:

1) La gelatina è il reagente più comodo e sicuro che si conosca per dimostrare la presenza dei fermenti triptici. Il solo criterio della fluidificazione basta completamente per dimostrare la presenza di un fermento. Tubi di gelatina si possono tenere parecchi giorni di continuo sotto un getto d'acqua senza che si sciolga traccia di gelatina. Gli stessi tubi ripieni di urina, latte, masse di bacterî, liquidi putridi di tutte le sorta, i quali per mezzo del calore si siano liberati dai bacterî o dai fermenti eventualmente in essi contenuti, possono essere conservati per mesi senza che avvenga mai traccia di fluidificazione.

La fibrina al contrario si scioglie ed anche con diversa prontezza, secondo la specie della fibrina stessa, in liquidi acidi come in alcalini o neutri (R. Deutschmann e G. Wolffhügel).

2) Colla gelatina si possono dimostrare fermenti in soluzioni molto più diluite che non colla fibrina, mentre per es. con quest'ultima, soluzioni di tripsina (1) al 1 : 8000 non sono dimostrabili con sicurezza; si arriva invece colla gelatina a constatarla persino in soluzioni di 1 : 32000 e di 1 : 40000 sicuramente, come si può vedere dalla seguente tabella:

Ricerca I (2).

Soluzioni di tripsina	Strato di gelatina sciolta	Fibrina 1/2 gr. per prova
1 : 1000	6 mm. 6 »	sciolta completamente » »
1 : 2000	4,5 » 5,5 »	» » » »
1 : 4000	4 » 4 »	» » sciolta imperfettamente
1 : 8000	3 » 3 »	non sciolta sciolta imperfettamente
1 : 16000	2 » 2 »	non sciolta » »
1 : 32000	0,5 » 0,6 »	» » » »

La gelatina quindi in questo caso sarebbe cinque volte più sensibile della fibrina. La sensibilità, rispettivamente la solubilità della gelatina si può anche a piacere aumentare. La si può aumentare o diminuendo la concentrazione della medesima usando per esempio di quella al 4-5 °/₀ invece che al 7 od al 10 °/₀, o tenendo le prove alla temperatura di 24°-25° C invece che a quella di 10° o 15° C. Od anche aggiungendo alla

(1) Tripsina della fabbrica di Merck in Darmstadt.

(2) Questa ricerca mostra con quanta incertezza può reagire spesso la fibrina. Due prove cioè fatte nell'identico modo dànno molto spesso risultati assai diversi.

medesima sostanze che ne aumentino la solubilità, per esempio gli alcali (soda).

A conferma di ciò valgono le due seguenti ricerche:

Ricerca II.

Si presero due provette, l'una contenente 10 ccm. di gelatina al 5 $^0/_0$ e l'altra contenente la stessa quantità di gelatina al 10 $^0/_0$, indi si versarono in ognuna delle medesime 5 ccm. di tripsina all'1 : 500.

Passati otto giorni il ritultato fu il seguente:

Gelatina al 5 $^0/_0$	I	prova	14
» »	II	»	14
Gelatina al 10 $^0/_0$	I	»	10
» »	II	»	10.

La sensibilità di questo metodo si può anche aumentare col tenere in movimento il liquido da esaminare nelle provette, come si può facilmente vedere dalla seguente

Ricerca III.

Due tubi di gelatina, contenenti ciascuno 10 ccm. di una soluzione di tripsina all'1 : 1000; uno fu lasciato tranquillo e per il liquido contenuto nell'altro fu fatta passare una corrente d'aria. Per controllo si fece passare pure una uguale corrente d'aria attraverso un altro tubo di gelatina contenente acqua pura; dopo 48 ore il risultato fu il seguente:

	Strato di gelatine sciolte
Tubo di gelatina con 10 ccm. di tripsina all'1 : 1000 lasciato tranquillo.	1 mm.
ubo di gelatina con 10 ccm. all'1 : 1000 di tripsina attraverso cui fu fatto passare dell'aria.	2,5 mm.
ıbo di gelatina con 10 ccm. di acqua distillata attraverso la quale fu condotta l'aria.	0

Si ottiene lo stesso risultato se invece di far passare dell'aria attraverso il liquido lo si tiene in movimento scuotendolo tratto tratto.

Essendo il liquido in moto le molecole di fermento vengono meglio in contatto colla gelatina (1).

3) Mentre per dimostrare la presenza di un fermento colla fibrina sono almeno necessari dai 10 ai 20 ccm. del liquido da esaminare, bastano invece colla gelatina da 1 $^{1}/_{2}$ ad 1.

4) Colla gelatina a differenza che colla fibrina si può osservare e misurare esattamente l'azione del fermento.

Agendo poi i fermenti nelle prove sulla gelatina incessantemente, se ne può seguire l'azione per mesi interi. Questo non può farsi colla fibrina, poichè i fermenti nel termostato s'indeboliscono presto e non agiscono più sulla medesima.

5) Colla gelatina si può studiare molto più facilmente che colla fibrina l'azione di sostanze chimiche (acido salicilico, acido fenico, sublimato, ecc.) sui fermenti. Colla fibrina ciò non è possibile, perchè queste sostanze da una parte coartano la fibrina e questa si scioglie con difficoltà e dall'altra indeboliscono i fermenti in modo che non agiscono più sulla fibrina.

RISULTATI

di alcune ricerche eseguite col metodo suesposto (2).

Colla gelatina istituii parecchie ricerche e trovai quanto segue:

1) Dimostrai una serie di enzimi proteolitici segregati dai microorganismi e ne studiai da vicino anche la loro pro-

---

(1) Secondo **Serge** e **Podolinsky** « Beiträge zur Kenntniss der pankreatischen Eiweissfermente » (*Pflüger's Archiv*, XIII, 422-443) l'ossigeno libero trasformerebbe il zimogeno molto più rapidamente in tripsina attiva. Se nelle ricerche suesposte l'ossigeno ha aumentato, l'attività della tripsina è incerto. Ciò si potrebbe facilmente decidere facendo attraversare il liquido da idrogeno o da acido carbonico invece che da aria.

(2) Le ricerche rispettive sono in parte contenute nel mio lavoro già citato e le altre verranno pubblicate in seguito.

prietà (1). Raffrontai, per es., l'azione di questi fermenti tra di loro e coll'azione della pepsina, della tripsina e della papaina. Determinai la temperatura alla quale ognuno dei singoli fermenti si distrugge; ho studiato l'azione di diverse sostanze chimiche sui medesimi, come pure ho ricercato le condizioni nelle quali i detti fermenti vengono segregati dai microbi.

2) Collo stesso metodo studiai l'indebolimento al quale alcuni fermenti (tripsina, papaina) soggiacciono. Se si sottomette, per es., la tripsina per un'ora alla temperatura di 50°, essa non scioglie più la fibrina, ma sì bene però ancora la gelatina; alla temperatura di 60° essa non agisce più neppure su quest'ultima.

Una soluzione neutrale acquosa di tripsina conservata anche alla temperatura ordinaria (10°-15° C) dopo quattro o cinque giorni non agisce più sulla fibrina, ma scioglie però ancora la gelatina e solamente alcuni giorni più tardi diviene inattiva anche per quest'ultima. Molto più rapidamente (già in 24 ore) la tripsina si indebolisce, se viene tenuta alla temperatura di 20° a 35°.

Lo stesso si osserva quando la tripsina è tenuta per un certo tempo (24 ore) in una soluzione di alcali (soda 20-30 p. $^0/_0$, potassa e soda caustica dall'1 al 3 p. $^0/_0$) od in acidi (acetico, malico, buttirico, ossalico, formico l'1 $^1/_2$ all'1 p. $^0/_0$, come anche nell'acido fenico dal 2 al 3 $^0/_0$; nell'acido salicilico in soluzione satura), o nel sublimato all'1 per mille.

3) A questo riguardo ho potuto rilevare in lavori d'altri alcune inesattezze:

Heidenhain (2) asserisce che la tripsina in soluzione, tenuta per 24 ore alla temperatura di 35°, digerisce se stessa e perde la sua attività. Io ho ripetuta la stessa ricerca ed ho trovato che la tripsina così trattata scioglie ancora la gelatina. La tripsina era in questo caso non distrutta, ma solamente indebolita.

(1) C. Fermi, « Die Leim und Fibrin lösenden und die diastatischen Fermente der Microorganismen » (*Archiv für Hygiene*, Bd. X, Heft 1).
(2) Heidenhain, *Archiv f. d. ges. Physiol.*, Bd. 10.

Kühne (1) scrive che la tripsina tenuta un certo tempo in una poltiglia di acido salicilico non agendo più sulla fibrina, sia distrutta. Da ciò che si è detto non si è autorizzati a venire a questa conclusione, perocchè la tripsina potrebbe essere soltanto indebolita.

Lo stesso sia detto per Krückenberg (2) secondo il quale i fermenti triptici di alcuni animali inferiori verrebbero distrutti dagli acidi ossalico e salicilico.

4) Così secondo Kühne (3), Corvisart, Baguinscki (4) la pepsina distruggerebbe la tripsina. Secondo Krukenberg (5) il fermento triptico di alcuni artropodi e del *lumbricus terrestris* dovrebbero venire distrutti dal peptico. Secondo Mees (6) dovrebbe persino la tripsina in soluzione alcalina (non neutra!) distruggere la pepsina.

Mediante il metodo della gelatina ho ripetute queste ricerche ed ho trovato che i due fermenti reciprocamente non si distruggono, che non è la pepsina che distrugge la tripsina, ma l'acido cloridrico e che non è la tripsina che rende inattiva la pepsina, ma sibbene la presenza dell'alcali.

5) Lo stesso è da osservare sulle ricerche riguardo alla presenza della tripsina nell'urina. Una serie di esperimentatori (Brücke, Walter Leo, Hans Leo, Hoffmann, Sta-

---

(1) Kühne, « Ueber das Verhalten verschiedener organisirten u. sogenannter unorganisirter Fermente » (*Verh. d. d. Naturhist. med. Ver. zu Heidelberg*, N. F. 1, Heft 3.

(2) Krukenberg, *Jahresb. d. Thierch.*, VIII, Bd. S. 30, 1878.
Id. » » IX, Bd. S. 270, 1879.
Id. » » IX, Bd. S. 272, 1879.

(3) Kühne, *Verh. d. naturh. med. Vereins zu Heidelberg*, N. F. I. Heft 3.

(4) Baguinscki, « Ueber das Vorkommen u. Verhalten einiger Fermente » (*Jahresber. d. Thierch.*, 1884, XIII, 416; id. *Zeitschrift f. Physiologie Chemie*, VII, 209, 221).

(5) Krükenberg, « Zur Verdauung bei den Krebsen » (*Jahresb. d. Thierch.*, IX, p. 274, 1879).

Id., « Zur vergleich. Physiologie der Verdauung bei den Fischen » (*Jahresb. der Thierch.*, VIII, p. 301, 1878).

(6) Mees, « Ueber Ausscheidung und Umsetzung von Digestions fermenten » (*Jahresb. d. Thierch.*, 1885, XV, 269).

delmann, ecc.) hanno ricercato mediante la fibrina, se nell'urina vi è o no tripsina e poichè la fibrina nelle prove non venne sciolta, essi conclusero che l'urina non contiene il detto fermento. La conclusione qui pure non è giustificata, perocchè se anche nell'urina vi fosse tripsina, essa sarebbe così indebolita ed in così piccole quantità da non potersi dimostrare colla fibrina (1).

Lo stesso dicasi di Walter Leo, il quale non riuscì per mezzo della fibrina a dimostrare la tripsina nelle feci.

Secondo H. Hoffmann (2), la tripsina nella urina umana dovrebbe distruggersi. Io ripetei queste esperienze e anche qui trovai che la tripsina conservata nell'urina scioglieva ancora la gelatina.

6) Così sulla questione del zimogeno: secondo Heidenhain ed altri (G. Weiss e Podolinski) l'estratto di pancreas fresco dovrebbe essere inattivo. Io ho studiata l'azione di estratti di pancreas freschissimi di cane, di bue, di oca e di colombo sulla gelatina ed essi si sono sempre mostrati attivissimi sulla medesima (3).

7) Come colla fibrina non si riuscì a dimostrare fermenti dove in realtà c'erano, così è pure avvenuto di credere di trovarne dove non ne esistevano. Così mediante la fibrina Gorup-Besanez (4) sarebbe riuscito a dimostrare fermenti peptonizzanti nei grani germoglianti di parecchie piante (*vicia sativa*, *cannabis sativa*, *linum usitatissimum*, ecc.). Io ho ripetuto queste ricerche colla gelatina in tutti i modi possibili

(1) La pepsina trovata nell'urina è anche molto indebolita, se non in quantità minime, imperocchè la fibrina sciolta precipita in gran parte in seguito alla semplice neutralizzazione.

(2) Hoffmann, *Pflügers's Arch.*, 148-149.

(3) Giovanni Weiss, « Beiträge zur Lehre der Pancreas verdauung » (*Jahresber. der Thierch.*, 1876, p. 77) trova che il pancreas di uomini morti per malattie, 48 ore dopo la morte fosse inattivo. Io ho ripetuto più di una volta la stessa ricerca colla gelatina, ma ho sempre potuto dimostrare la presenza di tripsina attiva.

(4) Gorup-Besanez, « Weitere Beobachtungen über die diastatischen peptonbildenden Fermente im Pflanzenreich » (*Ber. d. d. chem. Gesellsch.* 1875, p. 1510).

e non mi è mai riuscito di dimostrare traccia di simili fermenti.

8) Lo stesso valga per il fermento trovato da Krükenberg (1) nel tuorlo d'uovo di gallina. Io non sono riuscito nè per mezzo della fibrina, nè della gelatina a dimostrarne traccia. Una volta la fibrina venne bensì sciolta perfettamente, ma io mi ero servito di fibrina di porco, la quale come io trovai, si scioglie nell'acido cloridrico al 5 per 1000 perfettamente in poche ore. La reazione del Biuret, che di tanto in tanto si ottiene, è da ascrivere alla presenza di peptone contenuta nel tuorlo.

Così in questo senso sarebbero da ripetere colla gelatina parecchie altre ricerche sui fermenti eseguite colla fibrina; alcune delle medesime si trovano esposte nei seguenti lavori:

a) **Fermenti proteolitici negli animali inferiori.**

1) C. Fr. W. Krückenberg, « Ueber Enzymbildung in den Geweben und Gefässen der Evertebraten » (*Jahresber. d. Thierch.*, Bd. IX, 1879, p. 269).

2) Idem, « Zur vergleichenden Physiologie der Verdauung bei den Fischen ».

3) Id., « Vergleichende Physiologie Beitraege zur Kenntniss der Verdauungs vorgänge ».

4) Id., « Ueber ein peptisches Enzym im Plasmodium der Myxomyceten und im Eidotter vom Huhne » (*Jahresber. f. Thierch.*, 1879, IX, p. 270).

5) Id., « Nachtrag zur Verdauung bei den Krebsen » (*Jahresb. d. Thierch.*, IX, 272, 1879).

6) Id., « Nachtrag zu den Untersuchungen über die Ernährungsvorgänge bei Coelenteraten und Echinodermen » (*Jahresber. d. Thierch.*, IX, 1879, 272).

7) Id., « Ueber die Organisation und Physiologie von Octopus » (*Jahr. d. Thierch.*, 1878, VIII, 297).

8) Leon Frederig, « Uber die Verdauung der Albuminstoffe bei einigen wirbellosen Thieren » (*Jahrb. d. Thierch.*, 1878, VIII, p. 300).

9) Jousset de Bellesne, « Recherches sur le foie des mollusques céphalopodes » (*Compt. rend.*, 88, 304).

10) Id., « Recherches sur la digestion chez les mollusques céphalopodes » (*Compt. rend.*, 428).

(1) Krukenberg, « Uber ein peptisches Enzym im Plasmodium der Myxomyceten u. im Eidotter vom Huhne » (*Jahresb. d. Thierch.*, 1879, Bd. 9, pag. 270).

11) Id., « Recherches sur les fonctions des glandes de l'appareil digestif » (*Compt. rend.*, 82, 97. 82, 461).

12) Plateau, « Sur la digestion chez les insectes » (*Compt. rend.*, 82, 340. 83, 566).

13) Hoppe-Seyler, « Uber Unterschiede im chemischen Bau und der Verdauung höherer und niederer Thiere » (*Pflügers Arch.*, XIV, 395, 400).

b) Sui fermenti nelle piante.

1) Gorup-Besanez, « Weitere Beobactungen über die diastatischen und Pepton bildenden Fermente im Pflanzenreich » (*Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1875, 1510).

2) Gorup-B. und Will, « Fortgesetzte Beobachtungen über peptonbildende Fermente im Pflanzenreiche » (*B. d. d. chem. Ges.*, IX, 673).

3) C. Krauch, « Ueber peptonbildende Fermente in den Pflanzen. » (*Landw. Vers. Station*, 27, 382).

4) Sydney H. Wines, « The digestives Ferment of Nepenther » (*Journal of Anatomy and Physiologie. Jahresber. der Thierch.*, 11, 124).

5) Tischutkin, « Die Rolle der Bakterien bei der Veränderung der Eiweisstoffe auf den Blättern von Pinguicula » (*Ber. d. deutsch. bat. Ges.*, Bd. VII, S. 346, 355).

6) Wurtz u. Bouchat, *Compt. rend.*, LXXXIX, p. 425.

7) Bouchut, *Compt. rend.*, XCI, 67.

8) A. Hansen, « Ueber peptonbildende in den Secreten der Pflanzen » (*Sitz. ber. der phys. med. Ges. Würzburg*, 1884, N. 7. *Jahresb. der Thierch.*, XIV, p. 281).

c) Sul zimogeno.

1) Heidenhain, « Beitrage zur Kenntniss des Pankreas » (*Pflüger's Arch. f. Physiol.*, X, 557, 32).

(2) Sergei Podolinski, « Beitrag zur Kenntniss der pancreatischen Eiweissfermente » (*Pflüger's Arch.*, XIII, 424, 443).

3) Joh. Weiss, « Beiträge zur Pancreas verdauung » (*Jahresb. der Thierch.*, VI, 1876, p. 177).

d) Sulla tripsina nel feto.

1) Oscar Langedorf, « Uber die Entstehung der Verdauungsfermente beim Embryo » (*Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1879, p. 95, 112).

Essendo la gelatina un reagente così sensibile e sicuro per dimostrare la presenza di fermenti, si potrebbe pensare che la medesima potesse servire anche per una analisi quantitativa di un dato fermento.

Questo per altro, come si vedrà, non è il caso; una vera analisi quantitativa è per ora impossibile. Tutto quello che si può fare sarebbe *una analisi quantitativa relativa dell'azione dei fermenti.*

Fino a che noi non saremo riusciti ad isolare completamente gli enzimi proteolitici e non saremo in caso di conoscere l'indebolimento al quale i medesimi vanno soggetti, non si potrà parlare di un metodo per l'analisi quantitativa dei medesimi. A che metodo potremmo noi infatti pensare per dimostrare quantitativamente un fermento proteolitico? Noi non avremmo che due modi: Il primo sarebbe di precipitare dal liquido che lo contiene, il fermento, isolarlo e poi pesarlo. Ma noi non siamo ancora in caso di isolare i fermenti completamente, e poi, se anche ciò fosse possibile, certe minime quantità nell'isolarle andrebbero perdute.

Il secondo modo sarebbe questo: Si preparano diverse soluzioni di fermenti in determinate concentrazioni di tripsina, p. es.: 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 4000, ecc., poscia si determina quanta fibrina può sciogliere una determinata quantità di queste soluzioni (p. es. 50 ccm.) di tripsina in un determinato tempo, p. es. 5 ore e così si compone una specie di tabella nella quale si possono leggere i dati.

Volendo ora ricercare quanta tripsina contiene un dato liquido, si mescolerebbero 50 ccm. del medesimo colla determinata quantità di fibrina; dopo 5 ore si determinerebbe la quantità di fibrina sciolta, si raffronterebbero questi dati coi corrispondenti della tabella e se ne ricaverebbe la quantità di tripsina contenuta nel liquido.

La cosa sarebbe semplicissima, ma noi, come si è detto, non essendo ancora al caso di isolare i fermenti, non possiamo neppure preparare le soluzioni di tripsina in discorso di esatte determinate concentrazioni (1 : 1000; 1 : 2000, ecc.); inoltre poi, se anche questo fosse possibile, vi è un altro fatto da considerare e questo è il cambiamento nell'attività (*indebolimento*) al quale i fermenti vanno soggetti. La tripsina cambia da animale ad animale, da individuo ad individuo, da preparato a

preparato, cambia spontaneamente in soluzioni neutre, cambia rapidamente poi coll'innalzarsi della temperatura ed in seguito all'azione di sostanze chimiche diverse. Pensiamo ora di avere ricercato nel modo suesposto il contenuto di tripsina di un determinato liquido e di averne trovato, p. es., l'1 : 1000, si guarda nella tabella e si trova, p. es., che a questo dato corrisponde 1 : 8000 e se ne conclude che il detto liquido contiene 1:8000, questo potrebbe essere falso, perchè la tripsina in questo liquido potrebbe essere p. es. 4 volte più debole che non quella delle soluzioni della tabella ed allora invece di avere in questo liquido l'1 : 8000, avremmo 1 : 2000.

Quindi, come si vede, di un metodo esatto per la determinazione quantitativa della tripsina o di qualsiasi altro fermento proteolitico non è per ora a parlare e noi dobbiamo accontentarci di una determinazione approssimativa della quantità di un fermento, o forse più precisamente detto dell'azione proteolitica di una determinata quantità di un dato liquido.

Di simili metodi per determinare quantitativamente la pepsina se ne conoscono quattro, che sono i seguenti:

1) *Metodo di Grüenhagen* (1). — Si versa una quantità determinata di fibrina gonfiata nel HCl (0,2 per 100) in un filtro, si mescola con una determinata quantità di estratto di pepsina. La fibrina digerita raccolta in un cilindro graduato e dal volume della fibrina sciolta nel tempo determinato se ne deduce il contenuto di pepsina nell'estratto.

2) *Metodo di Grützner* (2). — Si versa in una provetta contenente una data quantità d'estratto di pepsina della fibrina colorata col carmino; tanto più concentrato è l'estratto di pepsina, tanto più grande sarà la quantità di fibrina che si scioglie nell'unità di tempo e tanto più intensa si colorerà la soluzione.

Il colore della soluzione risultante si paragona con una apposita scala normale.

(1) Gruenhagen, *Arch. f. d. gesammte Physiol.* 1872, V, p. 203.
(2) Grützner, « Neue Untersuchungen ueber die Bildung und Ausscheidung des Pepsins », Breslau, 1875.

3) *Metodo di Bruecke* (1). — Due soluzioni di pepsina, da paragonarsi fra di loro, si mescolano con acido cloridrico, così che ne abbiano a contenere 1 p. 1000, poscia con ognuna di queste soluzioni si compone una scala di provette in modo che per uguali quantità di liquido vada crescendo il grado di acidità. Così per es.:

Provette.	Soluzioni di pepsina.	HCl.
A	ccm. 16	ccm. 6
B	» 8	» 8
C	» 4	» 12

Si mette in ognuna di queste provette un fiocco di fibrina. Le provette delle due scale che contengono eguali quantità di pepsina scioglieranno gli stessi fiocchi di fibrina nello stesso tempo e così dal confronto del tempo impiegato nella digestione sarà possibile di calcolare il contenuto di pepsina nelle soluzioni.

4) *Metodo di Schütz* (2). — Si determina per mezzo del polarimetro la quantità di peptone prodotto da una data quantità di una soluzione di pepsina fatta agire per un dato tempo su albumina.

Questi quattro metodi poi i quali si servono della fibrina come reagente non servono nello studio della maggior parte degli enzimi triptici che si incontrano nel regno vegetale ed animale. La tripsina, che sia, come già si disse, solo leggermente indebolita od in soluzioni alquanto diluite (1 : 6000) non si può dimostrare con sicurezza colla fibrina.

Inoltre la fibrina non è adatta per dimostrare quantitativamente l'azione di una data soluzione di pepsina, perchè avviene molto spesso che due prove di digestioni preparate nel medesimo modo diano risultati diversi. Uguali quantità della medesima soluzione di tripsina sciolgono spesso nelle identiche condizioni quantità diverse di fibrina. La solubilità della fi-

(1) Brückė, *Sitzungsber. der Wiener Akademie*, XXXVII, p. 131.
(2) Schütz, *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1886, IX, 577.

brina cambia oltre che colla diversa specie d'animale (bue, porco) (1) dal quale proviene, anche da sangue a sangue del medesimo individuo (2).

Anche la determinazione quantitativa della pepsina a mezzo del polarimetro è lunga ed incerta. Incerta perchè la fibrina sciolta non viene subito trasformata tutta quanta in peptone ed ognuno dei diversi stadî d'idratazione pei quali passa l'albumina prima di venire peptonizzata polarizza, come è noto diversamente.

Adunque desiderando un metodo per determinare con approssimazione l'azione relativa di una data soluzione di un fermento triptico, io proporrei senz'altro quello della gelatina.

Descrizione del metodo.

Avanti tutto bisogna comporre una tabella dalla quale si possa vedere quanti millimetri di gelatina (gelatina al 6 per 100 in provette di 8 mm. di diametro) possono venir sciolti da una determinata quantità di diverse soluzioni di fermento in un dato tempo (48 ore).

Si vuole ora sapere all'incirca quanta tripsina è contenuta in un certo liquido? Non si fa che versare 5 ccm. del medesimo in una eguale provetta, dopo 48 ore si misura lo strato di gelatina sciolta e poi si guarda nella tabella quale soluzione corrisponde al numero di millimetri trovato.

Come esempio di tabella valga la seguente:

Si preparano soluzioni di tripsina al 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1:4000. Si versarono 5 ccm. di ognuna delle medesime in una provetta e di ogni soluzione si fecero due prove. Dopo 3 giorni,

---

(1) C. Fermi, « Die Auflösung des Fibrins durch Salze und verdünnte Säuren » (*Zeitschrift für Biologie*, Bd. XXVIII).

(2) Secondo G. Zimmermann (*Roser's und Wunderlich's Arch. f. Physiol. Heilkunde*, Bd. V, p. 349, 1846; Bd. VI, S. 53, 1847) la fibrina ottenuta dalla metà superiore delle cruore sembra meno solubile di quella della metà inferiore. La fibrina del sangue arterioso (nel cavallo) è meno solubile di quella del venoso.

misurato lo strato di gelatina sciolta, si ebbe il seguente risultato:

Soluzione di tripsina.	Dopo 3 giorni.
1 : 500	10 mm.
	10 »
1 : 1000	6 »
	6 »
1 : 2000	4,5 »
	4,5 »
1 : 4000	4 »
	4 »
1 : 8000	3 »
	3 »
1 : 16000	2,5 »
	2 »

Come si vede i risultati per ognuna delle due prove si corrispondono. Esempio di un'altra simile tabella sarebbe il seguente:

Soluzione di tripsina	Dopo 8 giorni	Dopo 16 giorni
1 : 1000	11	20
1 : 2000	8	15
1 : 5000	4	8
1 : 10000	2	4

Lo strato della gelatina sciolta non è naturalmente proporzionale alla concentrazione della soluzione del fermento.

Usando questo metodo farà d'uopo tener conto delle seguenti osservazioni:

1) Bisogna adoperare uguali tubi di gelatina; cioè tubi che abbiano lo stesso calibro che siano stati riempiti tutti ad un tempo della medesima soluzione di gelatina e che siano stati inoltre conservati assieme nelle identiche condizioni.

2) Si devono confrontare sempre fra di loro identiche quantità delle diverse soluzioni di fermento.

3) I liquidi da esaminare devono essere filtrati prima della ricerca.

4) Bisogna aggiungere alle prove sempre la medesima quantità dello stesso antisettico ed eventualmente uguale quantità di fuxina o di carbone.

5) Bisogna conservar sempre le prove alla stessa temperatura.

6) Le medesime non devono venire agitate, o se questo lo si vuol fare bisogna agitarle tutte egualmente.

APPENDICE.

Il metodo della gelatina per dimostrare direttamente la presenza di fermenti proteolitici in particelle solide.

Si ha da esaminare particelle animali o vegetali e si vuole per controllo accanto all'estratto analizzare anche la sostanza solida direttamente o si ha da esaminare un insetto, un organo di un animale inferiore, un seme, un pancreas di un feto, ecc., allora serve benissimo il seguente metodo:

Si prende la sostanza da esaminare, la si tagliuzza più o meno finamente secondo i casi, la si lascia circa 24 ore in un antisettico (ac. fenico 2 $^0/_0$), indi si prende una delle note provette, se ne fluidifica la gelatina contenuta, vi si versa dentro la sostanza, si agita un poco e poscia si versa il tutto su di una piastra di vetro; solidificata che si sia la gelatina sulla piastra, la si colloca sotto una campana, come si fa nelle ricerche bacteriologiche e la si pone nel termostato alla temperatura di 24 a 25 centigradi. Dopo 24 a 48 ore se nelle particelle da esaminare vi erano tracce di fermento, si trova attorno alle medesime la gelatina sciolta.

Osservazioni.

.nche per questo metodo si deve badare a quanto segue:

1) Si deve usare solamente gelatina antisettica. Per anti- 'ico serve benissimo l'acido fenico (3 $^0/_0$), il sublimato 1 $^0/_{00}$ in alcuni casi anche acidi minerali ed organici molto di- ti (ac. acetico, citrico, ecc.).

2) Non si devono usare quegli antisettici i quali fluidificano la gelatina, oppure che già da soli potessero renderla difficile a sciogliersi.

3) La temperatura nella quale le piastre vengono conservate non deve essere inferiore a 10, nè superiore a 25° C.

4) Dopo ogni singola ricerca bisogna assicurarsi che i microbi non vi abbiano preso parte.

Con questo metodo ho eseguite diverse ricerche. I risultati di alcune delie medesime sono i seguenti:

1) La fibrina, secondo l'opinione di Leo e Grützner e contro quella di Bendersky, è in caso di attirare a sè non solamente la pepsina ma anche la tripsina.

Io eseguii la ricerca in questo modo:

Tagliuzzai la fibrina finemente, la lasciai per 24 ore in una soluzione di tripsina al 1 : 5000, indi versai questa fibrina previamente lavata in un tubo di gelatina al timolo e ne feci nel modo sopra detto una piastra.

Per controllo versai una seconda piastra, dove la fibrina era stata 24 ore solamente in acqua pura. Collocate le due piastre sotto una campana le misi nel termostato a 25 gradi. Dopo 24 ore la gelatina della prima piastra attorno ad ogni singola particella di fibrina era sciolta, mentre che quelle delle piastre di controllo era ancora completamente solida.

2) Estraendo la tripsina da un liquido per mezzo della fibrina e poscia ricercando in quest'ultima la tripsina per mezzo della gelatina si può dimostrare sicuramente la tripsina in soluzioni fino al 1 : 15000. Nè nell'urina umana, nè in quella alcalina di bue potei dimostrare traccia di tripsina.

3) L'attirare a sè che fa la fibrina della tripsina non è solo una particolarità di quest'ultima, perchè particelle di legno, di carbone, di sughero, di pelle, di carta asciugante fanno lo stesso.

4) Semi germoglianti di canape, di fagiuoli, di lenticchie, di girasoli, di veccia, non contengono contro le ricerche di Gorup-Besanez traccia di fermenti proteolitici.

5) Le larve delle *tenebrio molitor* contengono un fermento proteolitico molto energico.

6) Un fermento triptico venne pure dimostrato nel *lumbricus terrestris*.

7) La *taenia medio canellata*, come già avrebbe dimostrato il Fredericq, quanto l'*ascaris lumbricoides* non contengono traccia di fermento triptico.

8) Gl'insetti *succiatori* (mosche, api, farfalle, ecc.) pare producano un fermento più debole od in meno quantità di quelli provveduti di un apparato masticatore (grilli, locuste, ecc.).

9) Il pancreas del feto umano contiene la tripsina già alla lunghezza di 18 cent. L'intestino produce un fermento triptico suo proprio. Detto fermento si rinviene prima della tripsina e prima nel crasso che nel tenue.

Alla fine ricorderò un terzo processo, il quale permettendo di esaminare la sostanza solida e l'estratto relativo ad un tempo, può servire di controprova agli altri due processi già menzionati.

Si versa la sostanza solida insieme all'estratto, al quale venne aggiunto ac. fenico (2 %) in un recipiente, vi si versa dal 5 al 7 % di gelatina antisettica e si pone il vaso nel termostato alla temperatura di 37° C circa. Dopo 48 ore si toglie il recipiente dal termostato e lo si pone a raffreddare. Se ora la gelatina non resta liquida se ne deduce la presenza di un fermento nella sostanza in esame.

Mi faccio ora un dovere di ringraziare qui pubblicamente il signor Geheimrath Dott. Max von Pettenkofer quanto il signor Prof. Emmerich per i mezzi ed i consigli gentilmente largitimi nel loro instituto.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 9.

Istituto Anatomo Patologico dell'Università di Perugia.

LE FORMAZIONI CISTICHE DELLA VESCICA E DELL'URETERE

OSSERVAZIONI

DEL

Prof. G. PISENTI

(Tav. III)

Sotto la denominazione di cistite e ureterite cronica cistica va una singolare forma di alterazione della mucosa della vescica e dell'uretere, che consiste nella formazione di una quantità di piccole cisti ora sporgenti sulla superficie della mucosa, ora infossate nel connettivo sottomucoso, generalmente non più grandi di un grano di canape e contenenti un liquido ora limpido, ora torbido. Talvolta sono così numerose da occupare tutto l'uretere, altre volte invece sono scarse assai, ed isolate le une dalle altre. Se hanno sede anche nella vescica sono localizzate al trigono di Lieutand. Contemporaneamente si nota che la vescica e l'uretere sono in preda ad infiammazione cronica. Il processo è abbastanza raro e ancor poco conosciuto perchè valga la pena di illustrarne i casi che si presentano al tavolo anatomico, tanto più perchè rari sono i casi fino ad ora descritti.

Rammenterò le osservazioni di Morgagni (1), due casi di

(1) Morgagni, « De Sedibus et Causis morborum », Liber III, Ep. 42; Liber III, Ep. 44. Patavii, 1745.

Rayer (1), il caso di Litten (2), quelli di Ebstein (3), di Hamburger (4), di Chiari (5).

Più recentemente vennero pubblicati i lavori di Limbeck (6), di Eve e di D'Aiutolo (7).

Oltre il poco numero di lavori sull'argomento, fa fede della rarità dell'affezione anche il silenzio tenuto in proposito da quasi tutti i più recenti trattati di anatomia patologica; invece qualche cenno se ne trova nell'Andral, nel Rokitanscki e nel Klebs.

Io ho potuto dalla osservazione di un caso raccolto nel praticare un'autopsia nella scuola d'anatomia patologica di questa Università studiare alcune particolarità intorno a questo raro processo morboso.

Dal reperto tolgo soltanto quanto concerne i reni, gli ureteri e la vescica.

Reni. — Capsula adiposa, povera di grasso, aderente alle capsula propria. Abbondanti venule stellate del Verein. Capsula propria che non si stacca dalla sostanza corticale. Il rene è più piccolo del normale, e presenta dei rientramenti cicatriziali. Numerose cisti da ritenzione, non più grandi di un grano di mais, taluna a contenuto limpido, tal'altra a contenuto torbido, e di aspetto purulento. Tagliando il rene esce poco sangue. La sostanza corticale è ridotta di spessore, ed ha co-

---

(1) Rayer, « Traité des Maladies des Reins », tom. III, pag. 560, Paris, 1841.

(2) Litten, « Pathologisch. Anatomische Beobactungen. II. Ureteritis chronica cystica polyposa nebst cystischer Degeneration der Niere » (*Virchow's Archiv*, Bd. 66, S. 139, 1876).

(3) Ebstein, « Zur Lehre von den chronischen Katarren der Schleimhaut der Harnwege und der cystenbildung in derselben » (*Deuts. Arch. f. Klin. Med.*, Bd. 31, S. 63, 1882).

(4) Hamburger, « Zur Histologie des Nierenbeckens und des Harnleiters » (*Arch. f. Mikrosch. Anatomie*, Bd. 17, S. 14, 1880).

(5) Chiari, *Viener. Med. Jahrbücher*, 1881, S. 16.

(6) Limbeck, « Zur Kenntniss des Epithelcysten der Harnblase und der Ureteren » (*Zeit. f. Heilkunde*, Bd. VIII, S. 55, 1887).

(7) D'Aiutolo, « Ureterite cronica cistica » (*Memorie della R. Accademia delle scienze di Bologna*, vol. IX, 1890).

lorito brunastro. Assai più chiaro è il colorito della sostanza midollare; il decorso delle piramidi è frammezzato da cisti piccole a contenuto purulento. I calici e i bacinetti renali sono ampi più del normale, e contengono un liquido torbido purulento. Ampia è l'imboccatura dell'uretere.

Nell'*uretere destro* il lume è più ampio del normale. La mucosa ha un colorito bruno, e mostra numerose pliche ipertrofiche — oltre a ciò nella porzione iniziale si notano alcune piccole cisti a contenuto limpido. — Poi per lungo tratto l'uretere ne è privo, e le cisti ricompaiono numerose nella porzione più bassa. Infatti a due dita trasverse circa o poco più dello sbocco nella vescica l'uretere presenta una specie di strozzamento circolare che diminuisce di alcun poco l'ampiezza del lume, ed al di sotto di questo cingolo, l'uretere presenta una dilatazione ampolliforme, la cui superficie mucosa è cosparsa di numerose cisti, alcune appena visibili ad occhio nudo, altre grandi quanto un pisello. Anche qui la mucosa è ipertrofica, coperta di denso muco e le pliche fanno saglienza sulla superficie.

L'*uretere sinistro* ha presso a poco gli stessi caratteri; solo le cisti sono in numero minore, e sono più piccole. Esso ha però come il destro lo stesso strozzamento in vicinanza allo sbocco, e la stessa dilatazione, colla mucosa ipertrofica e cosparsa di cisti.

La *vescica urinaria* ha pareti assai grosse e spesse; ipertrofica ne è la mucosa, e cosparsa da denso muco con caratteri di essudato muco purulento. Il colore della mucosa è pallido con tratti brunastri. — La vescica è contratta e quasi vuota, e contiene solo poche goccie di orina torbidissima purulenta. Il trigono vescicale è tutto, letteralmente tutto, cosparso di una quantità enorme di piccole cisti. La loro grandezza generalmente non sorpassa quella di un grano di miglio. Alcune contengono una sostanza quasi trasparente, altre hanno un contenuto opaco, giallognolo. Verso l'apice del trigono (*uvula vesicae*), le cisti son in minor numero per mancare completamente nell'uretra prostatica. L'esistenza delle nume-

rose cisti all'intorno dello sbocco degli ureteri, non li ha resi impervii. Una sottile sonda passa senza alcuno sforzo dall'uretere nella vescica. Gli organi genitali non presentano nulla di anormale.

Venne fatto l'esame a fresco del contenuto delle cisti, dell'uretere e della vescica. Di qualch'una le reazioni microchimiche corrisposero a quelle caratteristiche della mucina, ma in tal'altra invece si trovò un contenuto prettamente muco purulento. — Certe cisti invece erano ripiene di un liquido cremoso biancastro, che al microscopio risultava composto da una grande quantità di elementi rotondi, assai grossi, con protoplasma fortemente granuloso — nei quali, esaminati a fresco, senza il sussidio della colorazione, riescì impossibile di scoprire traccia di nucleo. — Oltre questi elementi, il contenuto era formato da detriti granulari, amorfi, residuo certo della distruzione dei grossi elementi dianzi descritti. — Nel contenuto di qualche cisti si rinvennero degli epitelî piatti con protoplasma granuloso, e discretamente conservato. In qualch'una era notevole la presenza di piccolissimi cristalli romboedrici, solubili nell'etere e nel cloroformio, poco solubili nell'alcool, quasi insolubili nell'acqua. — Io non potei determinarne la natura con esattezza.

Un pezzetto della mucosa vescicale del trigono con numerose cisti, venne disinfettato alla superficie e accuratamente deterso in acqua sterilizzata. Indi le piccole cisti vennero aperte con una forbice sterilizzata, ed il pezzetto di mucosa immesso nella cavità addominale di una cavia. Lo stesso si fece per un pezzetto di uretere, immesso nella cavità addominale di altra cavia. Darò poi giustificazione di questo fatto. Noto ancora che del contenuto di alcune cisti si fecero numerosi preparati istologici, colorendoli coi soliti mezzi atti a svelare la presenza dei microrganismi. In alcuni vennero trovati dei micrococchi in scarsa quantità. In altri nulla. Il risultato delle ricerche per scoprire se ci fossero bacilli della tubercolosi riuscì costantemente negativo.

L'esame istologico mostra, anche a debole ingrandimento, l'aumentato spessore della parete dell'uretere; aumento questo dovuto allo sviluppo del connettivo, e dei fasci muscolari lisci della parete, mentre l'epitelio non contribuisce ad aumentarne lo spessore. — L'epitelio infatti nei luoghi dove è ancora ben conservato, e dove pei processi cadaverici non s'è staccato, è di grossezza normale, e gli elementi conservano la loro forma e la loro disposizione stratificata.

È notevole però che le pliche della mucosa sono molto più rilevate del normale facendo forte sporgenza verso il lume dell'uretere. — Sotto all'epitelio di rivestimento, niun punto eccettuato, si nota un infiltramento parvi cellulare, talvolta disseminato, talvolta invece aggruppato, e questo infiltramento di elementi rotondi assume in certi luoghi persino una forma rotondeggiante, abbastanza regolare, talchè non sarebbe difficile dargli l'interpretazione di follicoli linfatici. È l'esame a forte ingrandimento che svela l'errore, giacchè non c'è di comune coi follicoli linfatici se non l'apparenza grossolana. Non ci sono limiti netti, e l'aumento di elementi va gradatamente sfumando, nei tessuti vicini, senza mai però scomparire se non nelle parti più profonde.

Se i caratteri istologici non bastassero a differenziare questi accumuli di elementi rotondi dai follicoli linfatici, noi trarremo sussidio per tale dimostrazione da due fatti: 1° Che nell'uretere malato, essi sono numerosissimi, contandosene persino 4-5 in una sezione lunga 1 centimetro, e spessa $^{1}/_{100}$ di millimetro; 2° Che negli ureteri sani questi accumuli non vennero mai trovati.

Tali accumuli perciò rappresentano nè più nè meno che focolai infiammatori submucosi — e credo per fermo che sieno caduti in errore coloro che li hanno creduti follicoli linfatici errore reso anche più grave dal fatto che taluno ha persino [illegible]uto trovare in qualche follicolo uno sbocco alla superficie [illegible]icosa, quasi che un follicolo linfatico si potesse identificare [illegible] una glandula secernente, e che abbisognasse perciò di dotto escretore, o di un'apertura.

Tali focolai infiammatori si trovano pure numerosissimi nelle sezioni del *trigono* — ma in questa parte della vescica quello che più di ogni cosa richiama l'attenzione è la presenza di numerose cisti, talune piccolissime, altre così grandi da occupare tutto il campo del microscopio (Zeiss DD., — 3 —). Le une si presentano come insenature della mucosa, le altre fanno leggiera rilevatezza sotto alla mucosa, altre infine sporgono liberamente alla superficie. — Taluna ha parete propria, e spesso rivestita da epitelio stratificato, tal'altra ha un epitelio cilindrico con nuclei che si colorano assai intensamente, qualche altra ancora ha un epitelio piatto, e schiacciato contro la parete.

In alcune l'epitelio è ben conservato, in altre invece è sfaldato, ed è venuto a raccogliersi nel mezzo della cisti.

Le cisti in qualche punto sono isolate, e rotondeggianti; ma in qualche altro invece sono tanto accosto le une alle altre da rimanere schiacciate, e da non esserci più che un sottile sepimento che le divida.

Da ciò è facile capire come debba essere molto varia la forma delle cisti; infatti alcune sono rotonde, altre ovali, e sono le più, ma alcune hanno forma allungatissima, altre invece hanno forma irregolare — talvolta le cisti sono isolate, senza comunicazioni con quelle vicine, altre invece, ricostruendo le cisti, come ho potuto far io colle centinaia di sezioni in serie, si può vedere che sono in comunicazione le une colle altre, e che le comunicazioni non sono artificialmente prodotte da usura dei sepimenti, ma da vere aperture rivestite dello stesso epitelio di cui son rivestite le cisti. — Tutte si trovano nel lasso connettivo sottomucoso, senza mai raggiungere lo strato muscolare.

Il contenuto delle cisti varia assai. Quelle molto grandi dovevano contenere solamente sostanze liquide, e nelle sezioni per conseguenza appaiono vuote.

Alcune cisti invece sono ripiene di una sostanza amorfa che si colora debolmente col carminio alluminoso, ma che invece si colora intensamente con quei colori di anilina che si

fissano a preferenza sulle sostanze mucose. Altre cisti però hanno o un contenuto prettamente granulare che non lascia vedere, di solito, elementi; se ce n'è, sono mal conservati, granulosi, rigonfi, ovvero ancora, ma assai più di rado, nell'interno delle cisti sono raccolti elementi rotondi, grandi, con granulazioni albuminoidi grosse, molto appariscenti, con nucleo piccolo ma che si colora brillantemente coi colori soliti. Io credo che tali elementi non abbiano nulla di comune con quelli che vanno sotto il nome di *cellule giganti epiteliali* a più nuclei (*Riesen-epithelzellen*) trovate nel caso di Litten, ed anche recentemente ricordate dal Dogiel (1).

Questa speciale forma di contenuto cellulare non fu notata da altri autori.

Nello spesso connettivo sottomucoso, e fra i fasci muscolari dell'uretere scorrono numerosi vasi sanguigni, a lume ampio, ed a pareti quasi normali. In qualche punto ho visto delle piccole emorragie parenchimali — ma nelle cisti non mi venne mai dato di trovare elementi sanguigni.

Queste le particolarità istologiche sulla forma e sul contenuto delle cisti dell'uretere.

Nella vescica orinaria, quantunque le alterazioni abbiano molti punti di contatto con quelle dell'uretere, pure è facile trovare delle modificazioni. E prima di ogni cosa devo dire che le cisti si trovano *esclusivamente* nella regione del trigono, e che nelle altre parti della vescica le numerose sezioni che io ho fatto non mi hanno rivelato la presenza di cisti.

Le particolarità principali sono dovute al fatto che il vecchio processo infiammatorio della vescica, aveva dato luogo ad un allungamento delle pliche della mucosa, le quali nelle sezioni perpendicolari alla mucosa assumevano, viste a debole ingrandimento, l'aspetto di piccolissimi villi.

Ciò esclude il dubbio che si trattasse di neoformazioni papillomatose. Queste ripiegature della mucosa erano tempestate

---

(1) Dogiel, « Zur frage über das Epithel der Harnblase » (*Arch. f. fik. Anat.*, Bd. 35, Heft. 4, § 389).

di piccole cisti. Le saglienze della mucosa assumevano talvolta una forma clavata, pel fatto che all'estremità si trovava una grossa cisti; tali particolarità ho cercato di riprodurre in una delle figure della tavola.

Nella vescica erano numerosissimi gli accumuli di cellule rotonde, talvolta assai grandi, e situati immediatamente al disotto della mucosa, tal'altra invece, e questi erano i più piccoli, in mezzo al connettivo della sottomucosa. Molti apparivano solcati da grossi e numerosi capillari, altri invece erano privi di vasi. I più grandi avevano forme tondeggianti dalla parte della mucosa, e facevano sporgenza verso la cavità della vescica, mentre si continuavano senza limiti netti nei tessuti circonvicini. Nella sottomucosa si trovarono delle cisti colle pareti tapezzate da un epitelio cilindrico semplice, con nuclei che si coloravano intensamente. La disposizione di queste cisti, la località dove si trovavano, l'esser qualch'una in comunicazione con altre vicine, l'esistenza infine di tubuli glandulari o cul di sacchi glandulari, tutto ciò sta ad indicare come queste cisti siensi originate da dilatazioni di questi cul di sacco glandulari. Altre cisti invece si trovavano, al pari di quelle dell'uretere, rivestite da un epitelio stratificato.

Per ultimo dirò come sia frequente osservare in mezzo agli accumuli di elementi rotondi delle aree chiare, limitate il più spesso da un sottile strato di connettivo, aventi nell'interno degli elementi epiteliali con nuclei poco colorabili — come ancora in altri preparati si notino delle piccole cisti conglomerate, ora nel mezzo degli accumuli, ora sporgenti liberamente sotto la mucosa.

Queste sono le particolarità istologiche che io ho potuto osservare, e della loro importanza ho potuto rendermene ragione avendo contemporaneamente fatto uno studio accurato sul modo col quale si presenta la mucosa normale dell'uretere e della vescica. Resta ora a cercare le ragioni del processo morboso, e indagare la genesi di queste cisti.

Non è però possibile formarsi una idea chiara della origine

delle cisti se non si ha una esatta conoscenza della composizione istologica della parete della vescica e dell'uretere. Ed è tanto più necessario pell'argomento presente in quanto che gli autori sono discordi nell'ammettere l'esistenza di glandule speciali nel tessuto connettivo sottomucoso di queste parti dell'apparecchio urinario.

Dobbiamo quindi dare un rapido sguardo riassuntivo a quanto si sa sull'istologia normale della vescica e dell'uretere.

Tralascio tutto ciò che riguarda l'epitelio che, come è noto, è nella vescica un epitelio di transizione (*Uebergang Epithelium*), come lo definì Henle sino dal 1841, che deriva da quello dell'intestino posteriore, ed è perciò una formazione entodermica, mentre quello dell'uretere proviene dal mesoderma. L'epitelio non prende parte alcuna alla formazione delle cisti: è però da osservare che nell'esame delle preparazioni io mi sono molte volte imbattuto in certi punti i quali avevano un aspetto eguale a quello che ho disegnato in una delle figure della tavola annessa.

In questi punti lo strato medio e superiore dell'epitelio si stacca dallo strato profondo, il quale rimane aderente al connettivo sottostante. Nell'allontanarsi che fanno i due strati medio e superiore dal profondo, lasciano degli spazi limitati da superfici molto irregolari rappresentanti le lacerazioni ed i distacchi dei prolungamenti delle varie cellule. Gli spazi che si originano in tal modo possono simulare una prima formazione di cisti; ed è bene sapere, onde evitare errori di interpretazione, che questi distacchi parziali degli strati che costituiscono la mucosa uretrale e vescicale si trovano con frequenza anco quando manca la formazione cistica.

In condizioni normali la mucosa presenta delle sporgenze e degli infossamenti che si originano dalle pliche della mucosa, 'o che normalmente queste pliche fan poco rilievo, e di conguenza poco profondi sono gli infossamenti, mentre in casi tologici, come quando per processi infiammatori si ipertrozano le pareti della vescica, si hanno pliche abbondanti e ai grosse e sporgenti, e per conseguenza infossamenti più

o meno profondi. Questi infossamenti son quelli che costituiscono le così dette cripte.

Orbene, le cisti si possono originare dalle cripte. Quando le pliche son molto grosse, le cripte si possono dilatare, e trasformare in vere e proprie cisti, le quali noi facilmente riconosciamo come cisti in tal modo originate perchè hanno forma irregolare, e non sono quasi mai tondeggianti, perchè hanno un epitelio affatto eguale a quello delle pliche, perchè si trovano superficiali assai, e spesso con evidenti comunicazioni coll'esterno. Questo modo di genesi delle cisti è ammesso da tutti gli autori, e la ragione di questa rara concordia risiede appunto nel fatto, che tutti riconoscono evidente la formazione delle cripte e il loro aumento in condizioni patologiche, e perchè si deve ammettere questo modo di formazione delle cisti per analogia con quanto succede in altre parti dell'organismo.

Ma qui si affacciano delle questioni anche più gravi, le quali si riferiscono alla esistenza dei follicoli linfatici nell'uretere e nella vescica, ed alla esistenza di glandule speciali.

Riguardo ai follicoli io dichiaro che nell'uretere non ne ho mai trovati ad onta delle numerose ricerche su molti ureteri perfettamente normali, tolte da cadaveri nei quali non si trovarono lesioni nè dei reni nè della vescica. L'Hamburger (1), che spesso viene citato dagli autori, non parla mai di follicoli linfatici dell'uretere, ma soltanto di quelli dei calici renali (2).

Il mio reperto negativo si accorda esattamente con quello di Chiari e di Told.

Il solo d'Aiutolo ne ha trovati tanto nel terzo superiore, che nel terzo inferiore dell'uretere.

Per la vescica io resto un po' in dubbio, giacchè ho osser-

---

(1) Hamburger, « Zur Histologie des Nierenbeckens und des Harnleiters » (*M. Schultze's Arch. f. Mikrosk.* Bd. 17, S. 14, 1879).

(2) In subepithelialen Bindegewebe des menschlichen Nierenbeckens sind stellenweise einzelne 420 μ lange, und 116 μ hohe Lymphfollikel zu sehen.

vato qualche rarissima volta nel tessuto adenoide sotto mucoso, sempre però profondamente, qualche accumulo assai piccolo di elementi rotondi, e ciò in condizioni che io reputo normali, e specialmente nel trigono. Il Weichselbaum pure ha trovato in qualche raro caso di questi accumuli, che per forma talvolta somigliavano ai follicoli linfatici, tal'altra invece si presentavano come focolai diffusi o circoscritti. Se altro dica il Weichselbaum in proposito non so, giacchè la citazione la tolgo dal Told, il quale pare che accetti i resultati di Weichselbaum; altre opinioni di autori non posso portare, giacchè nè nei trattati di Istologia, nè in quelli di Anatomia ho trovato che si parli di follicoli linfatici sottomucosi.

Riguardo alle glandule gli autori sono quasi concordi nell'ammettere che non ce ne sieno nell'uretere. L'unico che dice di averne trovate tanto nella parte superiore che nell'inferiore è l'Hamburger. Il Told invece dice di non averne mai trovate, nè mai ne trovarono il Krause (1), il Litten, l'Ebstein, ed il Limbeck. Il Gegenbaur parlando della mucosa delle prime vie di escrezione, dice che nei bacinetti ci sono piccole glandule acinose, ed in ciò egli si accorda colle vecchie ricerche di Unruh (2) e di Egli (3), e con quelle di Hamburger; ma non parla di glandule nell'uretere. Lo Schenk (4) dice che vennero descritte delle glandule nella porzione superiore dell'uretere, vicino ai bacinetti: probabilmente non si tratta che delle glandule di questi ultimi. Ed io pure non ne ho mai trovate nell'uretere.

Invece quasi tutti gli autori ammettono che si trovino glandule nella vescica urinaria e specialmente nel trigono, — dove non c'è accordo, è nello stabilirne la forma. — Dalle ci-

---

(1) Krause, *Handbuch d. Allgemeine Anatomie*, 1876.

(2) Unruh, « Ueber Blutungen in Nierenbecken und Ureter bei Pochen » (*Arch. f. Heilkunde*, 1872, Hft. 5, S. 289).

(3) Egli, *M. Schultze's Arch. f. Mikrosk.*, Bd. 9, Hft. III.

(4) Schenk, « Elementi di istologia normale dell'uomo ». Trad. Italiana, pag. 185.

tazioni che verrò facendo si vedrà che la maggior parte degli istologi e degli anatomici le descrive come glandule acinose, ma non manca chi le ha descritte come glandule tubulari.

Il Cruveillier (1), dice: « Les glandules de la muqueuse « vésicale sont tellement difficiles à démontrer qu'on a nié « leur présence. Avec un peu d'attention, cependant, on en « rencontre toujours au voisinage du col de la vessie, et sur « le trigone vésicale où elles abondent. J'en ai vu sur tous « les points de la vessie, sous la forme des vésicules miliaires. « Toutes ces glandules sont de petites glandes en grappe ».

Sappey (2) ne ammette l'esistenza, e conviene con Haller che è però molto difficile a constatarle.

Beaunis e Bouchard (3) invece dicono che la mucosa vesicale non ha glandule, eccetto qualche glandula tubulosa situata in vicinanza all'orificio uretrale.

Gegenbaur (4) ammette l'esistenza di glandule mucose nella vescica, senza specificarne la forma.

Lo Schenk (5) nega che esistano glandule, mentre lo Stöhr (6) dice che nel fondo della vescica nella tunica propria si trovano delle piccole glandule acinose, semplici. Della stessa opinione è il Krause.

Toldt (7) non ne parla affatto, ed il Frey (8) invece ammette l'esistenza di glandule semplici.

Dalle citazioni fatte mi pare che si possa concludere:

1° Che le glandule acinose si trovano discretamente abbondanti nel trigono, e che mancano quasi sempre nell'uretere;

---

(1) Cruveillier, « Anatomie descriptive », Paris, vol. II.

(2) Sappey, « Trattato di Anatomia umana », vol. III, pag. 572.

(3) Beaunis et Bouchard, « Nouveaux éléments d'anatomie descriptive », Paris, 1878.

(4) Gegenbaur, « Traité d'Anatomie humaine », trad. Franc. 1890, pag. 664, 665.

(5) Loc. cit.

(6) Stöhr, « Lehrbuch der Histologie, ecc. », 1887, pag. 163.

(7) Told, « Lehrbuch der Gewebelehre ».

(8) Frey, « Traité d'Istologie et d'Histochimie », Paris, 1876.

2° Che i follicoli linfatici mancano nell'uretere, e che ne è dubbia la loro esistenza nel tessuto adenoide della vescica.

Era necessario di stabilire così chiaramente queste particolarità di istologia normale, perchè ci serviranno di guida nello interpretare i fatti di anatomia patologica, ed anche perchè ho potuto vedere che qualche autore, come già dissi, fa una strana e inesplicabile confusione fra glandule e follicoli, arrivando persino ad identificarli.

Ed ora vediamo come si originino le cisti. Generalmente si è inclinati ad ammettere un duplice modo di formazione: il primo, sul quale non c'è discussione, è quello per cui le cisti risultano dal saldamento delle pliche, e dalla secondaria dilatazione delle cripte (*Verklebung's theorie*).

La possibilità che le cisti si formino in questo modo è già da tempo conosciuta, e se ne tratta largamente nella « Patologia dei tumori » di Virchow (1). Io non posso che confermare il fatto, avvertendo però che sono ben lungi dall'ascrivere a questo modo di genesi la parte preponderante nella formazione delle cisti. Che anche nel mio caso si trovassero in abbondanza delle cisti a forma irregolare, con epitelio stratificato, l'ho già detto; ma accanto a queste altre ve ne erano e in maggior quantità, con caratteri tali da non poterle colle prime identificare.

Queste cisti, secondo il mio modo di vedere, non possono neanche rientrare nella categoria di quelle che si dovrebbero sviluppare, secondo l'altra teoria, dalla *liquefazione degli elementi epiteliali* che si addentrano sotto forma di gettate nel connettivo lasso sottomucoso (*Epithelsprossung's theorie*).

Questa origine delle cisti io non la posso assolutamente accettare, ad onta che il Limbeck cerchi di suffragarla con buone descrizioni e con discreti disegni.

Per ammettere questa teoria bisognerebbe anche ammettere .e lo strato profondo dell'epitelio vescicale o uretrale, non

(1) Virchow, « Pathologie des Tumeurs ». Trad. Francese, tom. I, g. 230 e seg.

solo desse luogo, proliferando, alla rigenerazione degli altri strati medio e superficiale, ma che la sua proliferazione assumesse una forma atipica, esplicantesi con gettate epiteliali che si spingono nella profondità delle pareti vescicali. — Orbene, queste gettate epiteliali io non le ho mai viste, e credo che il **Limbeck** sia stato tratto in inganno da sezioni a sbieco di cripte le quali realmente possono simulare questi bottoni epiteliali.

Il **Rindfleisch** ammette in generale come genesi di alcune cisti questa liquefazione degli epiteli, ed è noto ancora che nello sviluppo della glandula mammaria il vuotamento dei dotti glandulari procede dalla liquefazione della porzione centrale (**Kölliker**) (1); ma nel caso della cisti dell'uretere e della vescica, non mi pare che questa teoria trovi la sua applicazione.

Io credo invece, e questa mia opinione trova il suo appoggio nello studio che ho fatto, che dal momento che ci sono glandule acinose nel connettivo sottomucoso del trigono, le quali sono munite perciò di un dotto escretore, il fatto più naturale sia quello di cercare in queste glandule la prima origine delle cisti. — Questo vale sicuramente per la vescica, dove le glandule acinose io le ho trovate abbondanti; ed è certo che quando il dotto escretore di queste glandule si oblitera, per un meccanismo che è facile immaginare, noi troveremo anche nella vescica quel fatto banale, che si trova in tutti gli organi glandulari che compiono una funzione secretoria, ed in cui il secreto non potendo più essere eliminato ristagna nello interno delle glandule, e sempre più si accumula, fino a che le pareti della glandula, restano sfiancate, e si ha così una formazione di cisti.

Secondo il mio modo di vedere, tutte le cisti le quali sono tondeggianti, e hanno un epitelio eguale a quello delle glandule acinose, devono provenire da dilatazione delle glandule stesse: sarebbero perciò nient'altro che *cisti da ritenzione*.

---

(1) Kölliker, « Traité d'Embriologie ». Trad. Franc.

Riguardo ai rari follicoli linfatici, è ovvio che non si possono neanche prendere in considerazione come atti a produrre le cisti. È necessario però che io faccia una considerazione: di questi follicoli linfatici, come già dissi, io ne metto in dubbio l'esistenza, ma volendoli anche ammettere, si potrebbe, esaminando le mie preparazioni, cadere nell'errore di crederli molto più numerosi di quello che non sono in realtà, per la ragione che immediatamente sotto agli strati epiteliali della mucosa si trovano frequentissimi focolai infiammatori circoscritti, ora di forma tondeggiante, ora irregolare.

Quando troviamo autori che parlano di numerosi follicoli linfatici nei casi di cistite cistica e ureterite, è lecito dubitare che si tratti piuttosto di questi piccoli accumuli di elementi rotondi dovuti al processo infiammatorio, e mi conforta sempre più in questa idea ciò che ho trovato in molti preparati. Nel mezzo di questi accumuli di elementi rotondi compaiono delle aree in cui gli elementi sono più smagliati, sono perciò aree chiare più o meno esattamente limitate. In altri preparati è evidente che si tratta di veri spazi vuoti, tapezzati da epitelio ben evidente sembrano perciò ad un esame superficiale delle piccole cisti racchiuse in mezzo agli elementi rotondi — e si potrebbe perciò concludere che la teoria della liquefazione trova qui quella applicazione che le è venuta a mancare per le gettate epiteliali.

Ma nelle sezioni in serie è possibile di ricostruire ogni cosa. Gli spazi chiari rivestiti da epitelio non sono altro che le sezioni trasverse di glandule acinose; le aree con elementi smagliati, rappresentano i punti dove la sezione è venuta a tagliare l'estremità di un cul di sacco glandulare; l'accumulo di elementi rotondi perciò non rappresenta un follicolo solitario, ma sta a provare come all'intorno di una glandula acinosa, si sia formato un circoscritto focolaio infiammatorio. In alcuni di questi focolai attornianti le glandule, le cose restano come io le ho descritte: in altri focolai invece, le glandule hanno subìto la dilatazione, e si è avuta la formazione di cisti.

Per me, adunque, escludo che le cisti si formino da colli-

quazione e degenerazione colloide degli elementi epiteliali penetrati a mo' di gettate nel connettivo sottomucoso: escludo che si formino dai follicoli linfatici, e ritengo come sicura la genesi dalle cripte per l'uretere, dalle cripte e dalle glandule acinose per la vescica.

Ma perchè le cisti si trovano disseminate quasi esclusivamente nel trigono e nell'uretere, e mancano nelle altre parti della vescica? Si potrà dire bensì per la vescica che dal momento che ci sono più glandule nel trigono, che non sulle altre parti, è ovvio che là se ne trovi più che sui lati, più che sull'alto fondo. Ma perchè allora se ne trovano nell'uretere dove glandule o non ce n'è, o se ce n'è esistono in numero inapprezzabile? Noi abbiamo visto che nel caso attuale si trovarono evidenti esempi del duplice modo di originarsi delle cisti, per cui anche nei luoghi dove per deficienza di glandule non si poterono sviluppare da queste, se ne potevano però sempre sviluppare dalle cripte.

Se si trattasse di forme parassitarie si potrebbe credere che il trigono ne rimanesse affetto più che le altre parti della vescica, perchè là si depositano i parassiti nel tempo in cui l'orina ristagna in vescica. Ma sino ad ora, tranne il caso di Eve, nulla c'è che convalidi l'opinione che le cisti sieno di origine parassitaria.

Io ho voluto cercare se ci fosse qualche ragione più che filogenica, ontogenica di questa localizzazione simultanea delle cisti nel trigono e nell'uretere, e sono ricorso all'embriologia, la quale è destinata ad allargare gli orizzonti, ed a gettar luce feconda sui fatti oscuri all'anatomia normale e dell'anatomia patologica.

Non era se non studiando come si sviluppa nei mammiferi la vescica e l'uretere, notando i rapporti reciproci di queste due parti, che io poteva sperare di giungere ad una conclusione.

È noto infatti, e quasi tutti gli autori si accordano, che l'uretere proviene nei mammiferi da una specie di bottone vuoto, che nascerebbe all'estremità inferiore del canale di

Wolff, a breve distanza dal punto dove questo canale si apre nel seno urogenitale. — Così originato, l'uretere si allunga sotto forma di un tubo vuoto, che va a situarsi allo indietro e lungo il canale di Wolff.

Però esso non tarda a separarsi dal canale dal quale ha preso origine, e se dapprima sbocca con questo nel seno urogenitale, non tarda a formarsi uno sbocco indipendente, rimanendo però sempre nel seno urogenitale.

Sviluppandosi l'embrione, questa disposizione si modifica, e vediamo gli ureteri attorniare il canale di Wolff, e sboccare non più nel seno urogenitale, ma più in alto, in quella parte dell'allantoide che allargandosi ha formato la vescica.

A me non importa seguire più oltre l'organogenia dell'uretere, e sapere qual parte prenda alla formazione dei tubuli, tanto più che gli embriologi non sono ben d'accordo su questo punto.

Da un lato infatti Kölliker, Told, Ribbert sostengono che l'uretere dà origine a tutti i tubuli uriniferi; mentre, secondo Semper, Braun, Fürbringer, Balfour, Segdwich, Hertwig, ecc. l'uretere darebbe origine ai soli tubuli retti, provenendo gli altri tubuli da una massa mesodermica in continuazione col tessuto Wolffiano provenienti dall'epitelio pleuro peritoneale — (Romiti, Kowalewscki, Duval).

La vescica invece si sviluppa dall'allantoide espanso in maniera fusiforme. Gli ureteri perciò formati da un tessuto primordiale affatto indipendente dall'allantoide, si mettono in rapporto colla vescica soltanto col perfezionarsi del loro sviluppo. — È però da avvertire che gli ureteri prima ancora di abbandonare il seno urogenitale, nel quale dapprima sboccavano, per portarsi, come si disse, più in alto, si erano già trovati in rapporto con una porzione della vescica: questa ·rzione della vescica è quella che corrisponde al trigono di eutaud. Anzi si può facilmente vedere che il trigono stesso ·ù che appartenere per lo sviluppo alla vescica, appartiene l'uretere.

Infatti quando noi vediamo che gli ureteri si allontanano

dal seno urogenitale e vengono a sboccare più in alto nella parete posteriore della vescica, noi spieghiamo questo cambiamento di posizione ammettendo che il tessuto primordiale dell'uretere innestatosi nella parete posteriore della vescica, si accresca rapidamente, e così crescendo venga a spostare in alto lo sbocco dell'uretere e a formare quella porzione della parete posteriore della vescica che corrisponde al trigono di Lieutaud.

Di questa dimostrazione morfologica primordiale del trigono se ne ha una prova anche nella esistenza dell'angolo anteriore del trigono; e quasi questo non bastasse, la disposizione dei fasci muscolari lisci i quali dall'uretere si portano al trigono e ne formano la massa fondamentale, chiude la serie delle prove dimostrative.

Tutto ciò che dicono gli embriologi in proposito viene sempre più a confermare la dimostrazione ontogenica che ho data, e le divergenze d'opinione sul modo col quale si sviluppano gli ureteri non infirmano i concetti suesposti.

Così Gegenbaur sostiene che l'uretere nei mammiferi non si sviluppi nel canale di Wolff — nei mammiferi l'origine dell'uretere sarebbe più autonoma. — Secondo Gegenbaur il canale renale infatti darebbe origine al rene definitivo e all'uretere, ma il canale renale non si svilupperebbe dai corpi Wolff, ma a spese dell'uraco.

Io non ho dati particolari, nè competenza speciale a pronunciarmi per l'uno o per l'altro modo di vedere: per la questione presente il fatto è di secondaria importanza, essendo essenziale non il modo col quale si sviluppa la vescica e l'uretere ma come questi si metta con quella in rapporto.

Resta stabilita così con data di fatti dedotti dall'ontogenesi, dall'anatomia descrittiva e dalla istologia la identità del tessuto primordiale dell'uretere e del trigono.

Che questa comune origine possa essere invocata come att a portare qualche luce sulla oscurissima genesi di questo pro cesso morboso, parmi che non ci possa esser dubbio. Infatt quando noi vediamo che lo stesso processo morboso si loca

lizza quasi unicamente in parti che ripetono la stessa origine embrionale, bisognerebbe non esser logici per negare la esistenza di un legame fra l'origine dei tessuti e la localizzazione del morbo.

La spiegazione che io ho tentato di dare è lungi, ed io lo riconosco per primo, dal poter rispondere a tutte le domande che potrebbero esser rivolte. Resta infatti oscuro, fra l'altri, anche questo punto: perchè il processo si localizza molte volte ad un uretere e al trigono, e risparmia l'altro uretere? Ma ognuno che abbia conoscenza delle difficoltà grandissime che si incontrano ogni qualvolta noi vogliamo renderci ragione del perchè di alcuni fatti patologici, non vorrà certo negar valore al rapporto che io ho messo innanzi fra l'uretere e il trigono, unicamente perchè questo rapporto embriologico non spiega tutti i fatti. — È vero che la struttura istologica della mucosa dell'uretere è un po' diversa da quella del trigono, non tanto però perchè ci sia diversità nella forma dell'epitelio, o nelle pliche della mucosa, che anzi si può dire esistere una quasi identità; la differenza sta solo in ciò che nell'uno, ci sono delle glandule le quali concorrono alla formazione delle cisti, mentre nell'altro mancano. Ma noi abbiamo visto che le cisti si formano bensì dalle glandule acinose, ma però anche dalle cripte, le quali si trovano tanto nell'uretere come nel trigono. Se le cripte esistono anche nei lati della vescica e nell'alto fondo, e pure non partecipano alla formazione cistica, si è perchè tessuti ontogenicamente eguali, quali sono l'uretere e il trigono, rispondono alla stessa causa morbosa in modo speciale, e differente da quello con cui risponde un tessuto il quale abbia una origine embrionale diversa.

È deplorevole che neanche il caso da me descritto serva a risolvere la questione della origine parassitaria delle cisti.

L'unico fatto che io posso portare a contributo di ciò è questo, che nelle cavie inoculate con pezzetti del trigono e dell'uretere cosparso di cisti, non trovai dopo parecchio tempo

traccia alcuna di tubercolosi. Al caso presente perciò non si può applicare neanche lontanamente il concetto che le formazioni cistiche sieno di origine tubercolare.

Così pure nulla trovai che giustificasse il sospetto che si trattasse di lesioni parassitarie da psorospermosi.

Quello invece che appare probabile è il legame fra l'antico processo infiammatorio della vescica e dell'uretere, e le formazioni delle cisti, essendo anche di una certa importanza il fatto che l'uretere presentava a breve distanza dallo sbocco nella vescica uno strozzamento, quale fu osservato in altri casi consimili da altri autori.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1ª. — Uretere aperto longitudinalmente, colla mucosa cosparsa di cisti prominenti. — *A*, Strozzamento dell'uretere con sottostante dilatazione.

Fig. 2ª. — Cisti dell'uretere prominenti, vedute di profilo.

Fig. 3ª. — Sezione della mucosa del trigono a piccolo ingrandimento. — *A*, Cisti ripiena di grossi elementi staccati, con piccolo nucleo laterale, situata all'estremità di una plica della mucosa, simulante un prolungamento papillare. — *B*, Accumuli di elementi rotondi (focolai infiammatori) della sottomucosa. — *C*, Cisti tapezzate di epitelio cilindrico, provenienti dal cul di sacchi glandulari. — *D*, Epitelio della mucosa del trigono.

Fig. 4ª. — Infossamento della mucosa, i cui strati si sono staccati, così da simulare la formazione di cisti.

Fig. 5ª. — Cisti, a epitelio cilindrico con grossi elementi a nucleo laterale. — *A*, Detriti granulari, con resto di nuclei.

Fig. 6ª. — Cisti da insenature della mucosa dell'uretere e del trigono.

Fig. *A* e *B*. — Figure schematiche per dimostrare i primordiali rapporti dell'uretere col seno urogenitale e colla vescica. — (Figure tolte dal *Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbelthiere*, del Dott. Wiedersheim, 1882).

Fig. *C*. — Figura schematica per dimostrare come l'uretere portandosi in alto nella vescica, costituisca colla sua parete posteriore la parete del trigono di Liebaud.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 10.

Istituto Farmacologico della R. Università di Palermo.

AZIONE DELLA STRICNINA SUI CENTRI PSICO-MOTORI

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

Dott. **Filippo Arturo FODERÀ**

Assistente.

Il primo sperimentatore che parlò di un'azione della stricnina sul cervello fu lo Spitzka, il quale attribuì alla stricnina la proprietà di eccitare spasmi epilettiformi di origine corticale (1).

I farmacologi però non inclinano ad accettare un'azione diretta di questa sostanza sul cervello: al più ammettono un'azione indiretta, dovuta alle modificazioni che la circolazione sanguigna in genere, e quindi anche la circolazione cerebrale in ispecie, risentono per l'influenza del farmaco.

Le osservazioni cliniche ci hanno detto che nell'avvelenamento per stricnina la coscienza si mantiene integra sino a che non sopraggiunge l'asfissia.

D'altra parte è nota l'esperienza del Rossbach: questi ha dimostrato che i conigli col midollo spinale separato dal cervello e mantenuti in vita con la respirazione artificiale, avvelenati con stricnina continuano a rosicchiare pacificamente

(1) Fonssagrives, artic. « Stricnina » nel *Dictionnaire enciclopeique des Sciences médicales.*

il nutrimento che loro si offre, mentre hanno il tronco in preda al tetano (1).

Finalmente, le ricerche tossicologiche fatte sul contenuto di stricnina nei singoli tessuti ed organi nei casi di avvelenamento, tanto sull'uomo che sugli animali, han posto in sodo che il veleno si trova in quantità considerevole nella sostanza grigia del midollo spinale, del midollo allungato e del ponte di Varolio, mentre nel cervello ne esistono appena tracce.

Allo scopo di stabilire il diverso grado di eccitabilità dei singoli centri motori, i professori Luciani e Tamburini si proposero di studiare il diverso modo di rispondere dei centri corticali agli stimoli elettrici dietro pregressa stricnizzazione dell'animale e prima che cominciassero gli accessi tetanici o negl'intervalli tra un accesso e l'altro. Gli autori suddetti ottennero però risultato positivo da una sola esperienza su di un coniglio: videro cioè, prima che fosse insorto il tetano, l'area del centro dei movimenti delle labbra e della mandibola farsi più estesa che prima dell'avvelenamento » (2).

Un'altra osservazione isolata, fatta però incidentalmente e sotto altro punto di vista fisiologico, si trova nello studio del Prof. Marcacci sui centri motori corticali.

Il Marcacci, insieme al Dott. Jullien, sperimentava sul potere assorbente del collo dell'utero, ed adoperava in queste ricerche la stricnina. Per utilizzare in due modi l'animale egli aveva posto allo scoperto il cervello e determinati i centri motori degli arti. Appena l'animale mostrò i primi segni dello stricnismo il Marcacci eccitò la zona motrice ed immediatamente ottenne un attacco di emiepilessia. Rimessosi l'animale in calma, l'A. tornò ad eccitare al di fuori della zona motrice, e l'attacco si ripetè con gli stessi caratteri e con la stessa intensità, e così per dieci o dodici volte (3). Insisto

(1) Nothnagel e Rossbach, « Materia medica ».

(2) « Ricerche sperimentali sulle funzioni del cervello » (*Rivista sperimentale di Freniatria,* anno IV, 1878).

(3) « Centri motori corticali ». Studio critico-sperimentale. Torino, 1882.

su questa esperienza che trova bellissimo riscontro nelle mie ricerche.

Sino al 1890 però non si era fatta alcuna indagine sistematica sul cervello dopo la somministrazione di stricnina. In quell'anno apparve un lavoro del Dott. Biernacki eseguito nel Laboratorio farmacologico del Prof. Tumass in Varsavia (1).

Il Dott. Biernacki, sperimentando su conigli, venne alla conclusione che la stricnina produce una diminuzione dell'eccitabilità della corteccia, con che egli spiega i benefici effetti che dall'uso di questa sostanza si ottengono nella dipsomania, in certe forme di insonnio, ecc.

Riporto qui testualmente le conclusioni che l'A. trae dalle proprie esperienze:

1° La stricnina agisce sul cervello: essa o iniettata per via sottocutanea, o per applicazione diretta, produce una diminuzione dell'eccitabilità della corteccia.

2° È dubbio se la stricnina spieghi un'influenza diretta sulla sostanza corticale: probabilmente la diminuzione dell'eccitabilità è dovuta allo stato di eccitazione del midollo spinale, e forse anche di altre parti del sistema nervoso centrale.

3° Gli ottimi successi dell'azione della stricnina nella dipsomania, nell'insonnio, si possono spiegare per la sua proprietà surriferita.

4° Sarebbe desiderabile che la stricnina venisse provata in diversi stati di eccitazione della corteccia cerebrale.

I risultati delle esperienze del Biernacki parvero a me in poca armonia con le conoscenze farmacologiche sulla azione della stricnina e con le conoscenze fisiologiche sul rapporto che passa tra la zona motrice corticale ed il midollo spinale.

Sembrommi quindi opportuno ritornare sulle esperienze del Biernacki, tanto più che si tratta di chiarire, se i mezzi di investigazione di cui in oggi disponiamo lo consentono, il

(1) « Therapeutische Monatshefte », 1890.

[illegible]

[illegible] esperienze.
[illegible]

[illegible] completa [illegible] degli [illegible] completamente [illegible] si [illegible] somministrazione [illegible] il tempo la [illegible] capace di [illegible]

[illegible] cio- [illegible]

[illegible] stesso procedi- [illegible] il cervello ta- [illegible] robusta, procedimento [illegible] riesce più agevole.

Per quel che concerne il modo di somministrazione della [illegible], mi son giovato unicamente delle iniezioni ipodermiche, e non ho creduto di dover ricorrere alle pennellazioni locali, sia perchè nel caso in ispecie non le credevo esenti da [illegible], sia perchè i risultati ottenuti col metodo delle iniezioni ipodermiche furono così nitidi da non richiedere ulteriore controllo.

Presento qui i protocolli di alcune esperienze, scelte a caso fra le molte eseguite (1).

(1) In tutte le esperienze adoperai la slitta animata da una pila Grenet modello medio. La slitta era graduata in 15 divisioni ciascuna di 1 cm. La corrente svolta dall'apparecchio era di costante intensità.

ESPERIENZE SUI CONIGLI

Esperienza I. — *13 ottobre 1891.*

Coniglio albino gr. 1746.

Ore	Osservazioni
11 ant.	Sotto debole narcosi cloroformica si scopre la zona psicomotrice di destra e si determina il centro per l'estensione della zampa anteriore di sinistra. Si slega l'animale e lo si lascia in riposo.
2 pom.	L'animale è perfettamente rimesso dal trauma subito. Per via di tentativi si saggia l'eccitabilità della corteccia nel centro precedentemente determinato. Si ha l'estensione della zampa con la distanza massima tra i rocchetti di 11 cm.
3 pom.	Si torna a saggiare l'eccitabilità del centro suindicato. La massima distanza tra i rocchetti è di cm. 11 $^1/_2$.
3–4 pom.	Di 15 in 15 minuti si determina la massima distanza tra i rocchetti: si ha la cifra costante di cm. 11 $^1/_2$.
4,20 pom.	Massima distanza cm. 11 $^1/_2$. Si inietta $^1/_{20}$ di mmg. di nitrato di stricnina.
4,40 pom.	Nessun segno di ipereccitabilità spinale. Distanza massima cm. 11 $^1/_2$. Si inietta $^1/_{20}$ di mmg. di nitrato di stricnina.
4,55 pom.	L'animale mostra i primi segni di ipereccitabilità spinale. Massima distanza 13 cm.
5,3 pom.	I segni dello stricnismo si rendono più manifesti. Massima distanza 15 cm.
5,15 pom.	Persistono le medesime condizioni. Si sospende.
	NB. — L'indomani l'animale si mostrò molto abbattuto, e soccombette nelle successive 24 ore. All'autopsia si notò una grave encefalite.

Esperienza II. — *19 ottobre 1891.*

Coniglio gr. 1816.

Ore	Osservazioni
9 ant.	Si scopre la zona psico-motrice di sinistra e si determina il centro estensore della zampa anteriore destra. Si slega l'animale. In questa esperienza non si è somministrato cloroformio.
12 merid.	L'animale si mostra completamente normale. L'estensione della zampa anteriore destra si ottiene con la massima distanza tra i rocchetti di 9 $^1/_2$ cm.
12—2 pom.	Determinando di 20 in 20 minuti la massima distanza tra i rocchetti, questa risulta sempre di cm. 9 $^1/_2$. Con una distanza di 7 cm. si ha accesso di emiepilessia.
2,5 pom.	$^1/_4$ di mmg. di nitrato di stricnina.
2,20 pom.	Segni evidenti di stricnismo. Massima distanza 12 cm.
2,30 pom.	Sempre più pronunziati i segni di stricnismo. Massima distanza 15 cm. Eccitando il centro con una distanza di 12 cm. si ha accesso di emiepilessia.
2,35 pom.	Distanza massima 15 cm. Con una distanza di 12 cm. si ripete l'accesso di emiepilessia. Con una distanza di cm. 13 $^1/_2$ oltre all'estensione della zampa si ha il movimento della spalla, degli occhi e della testa.
2,43 pom.	Stessi fatti. Si sospende.

Esperienza III. — *4 novembre 1891.*

Coniglio albino gr. 1436.

Ore	Osservazioni
10 antim.	Si scopre sotto debole anestesia cloroformica la zona psico-motrice di sinistra, e si determinano i centri per l'estensione della zampa anteriore destra, per il movimento della spalla e per quello della testa. Si slega l'animale e lo si lascia in riposo.
2 pom.	Il coniglio si mostra del tutto normale. Distanza massima tra i rocchetti per avere l'estensione dell'arto anteriore 10 cm.

Ore	Osservazioni
2—4 pom.	Saggiando di tempo in tempo, la distanza massima risulta sempre di 10 cm.
4,10 pom.	$1/2$ mmg. di nitrato di stricnina.
4,25 pom.	Manifesta ipereccitabilità spinale. Massima dist. 15 cm.
4,35 pom.	Sempre più manifesti i fatti stricnici. Massima distanza 15 cm. Con una distanza di cm. 13 $1/2$, oltre all'estensione della zampa si ha il movimento degli occhi e della testa.
4,42 pom.	Violento accesso di tetano, che presto vien seguito da altri accessi più deboli e di minor durata.
5 pom.	Non più tetano. Persiste ipereccitabilità spinale. La zona motrice è però assai depressa: per ottenere l'estensione della zampa la massima distanza tra i rocchetti è di 6 cm. Si sospende.

ESPERIENZE SUI CANI

Esperienza IV. — *24 ottobre 1891.*

Cane bastardo: Kgr. 7,320.

Ore	Osservazioni
11 antim.	Sotto leggera anestesia cloroformica si pratica la trapanazione in corrispondenza del solco crociato di sinistra. Si determina il centro per l'estensione della zampa anteriore destra. Si lascia l'animale in riposo, togliendolo dall'apparecchio di contenzione.
2 pom.	L'animale è vispo. Lo si ripone nell'apparecchio di contenzione e si determina la massima distanza tra i rocchetti che risulta di 9 cm.
2—3 pom.	La massima distanza determinata a regolari intervalli è sempre di 9 cm. Con una distanza di 7 cm. si ha un leggero accesso di emiepilessia.
3,5 pom.	$1/2$ mmg. di nitrato di stricnina.

Ore	Osservazioni
3,20 pom.	Segni di stricnismo. Massima distanza 13 cm.
3,30 pom.	Sempre più accentuati i fatti stricnici. Massima distanza 15 cm. con la quale però la risposta è molto più energica che per l'innanzi. Con una distanza di 12 cm. oltre all'estensione della zampa, si ha anche il movimento della spalla ed un moto di rotazione di tutto l'arto. Con una distanza di 10 cm. si produce un accesso di emiepilessia.
3,40 pom.	Stessi fatti. Si sospende.

Esperienza V. — *11 novembre 1891.*

Cane bastardo: Kgr. 10,115.

Ore	Osservazioni
11 antim.	Trapanazione in corrispondenza del solco crociato di destra. Si determina il centro estensore della zampa anteriore sinistra. Si slega l'animale e lo si lascia in riposo. In questa esperienza non si è praticata anestesia.
2 pom.	Cane del tutto normale.
3 pom.	L'animale continua ad essere vispo. Lo si lega e si determina l'eccitabilità elettrica del centro suindicato. Distanza massima tra i rocchetti 10 cm.
3–4 pom.	Distanza massima determinata di 15 in 15 minuti: 10 cm.
4,15 pom.	1 mmg. di nitrato di stricnina.
4,26 pom.	Ipereccitabilità spinale notevole. Massima distanza 15 cm. Con distanza di 12 cm. oltre all'estensione della zampa si ha il movimento intero dell'arto come per la marcia. Con 11 cm. si produce anche, eccitando sempre il solo centro in esperimento, il movimento degli occhi e della testa.
4,35 pom.	Sempre più accentuati i segni stricnici. Distanza massima 15 cm. con la quale si ha il movimento dell'intero arto. Con 12 $^1/_2$ cm. si produce un accesso di emiepilessia.

Ore	Osservazioni
4,40 pom.	$^1/_4$ di mmg. di nitrato di stricnina.
4,48 pom.	Ad ogni leggero rumore l'animale sussulta vivamente.
4,51 pom.	Tetano, che si ripete dopo breve intervallo.
5,30—6 pom.	Non più tetano. Persiste l'ipereccitabilità spinale, ma la corteccia cerebrale è quasi ineccitabile.

Esperienza VI. — *3 dicembre 1891.*

Cane bastardo: Kgr. 13,421.

Ore	Osservazioni
9 antim.	Si opera il cane di trapanazione a destra, nella regione del solco crociato e si determinano i centri per l'estensione della zampa anteriore sinistra, per il movimento degli occhi e della testa, e la zona neutra limitrofa a questi centri. In quest'esperienza non si è adoperata l'anestesia.
1 pom.	L'animale è vispo. Lo si lega nell'apparecchio di contenzione e si determina l'eccitabilità del centro per l'estensione della zampa: risulta una distanza massima di 8 cm.
1—3 pom.	La distanza massima, determinata di 20 in 20 minuti, si mantiene sempre di 8 cm.
3,5 pom.	Si inietta $^1/_2$ mmg. di nitrato di stricnina.
3,20 pom.	Segni manifesti di ipereccitabilità spinale. Distanza massima 13 cm.
3,30 pom.	Fatti stricnici più notevoli. Distanza massima 15 cm. Eccitando un punto della zona neutra, limitrofa ai centri suindicati, si ha, con una distanza di 12 cm. il movimento complesso dell'arto e della testa.
3,35 pom.	Stessi fatti. $^1/_2$ mmg. di nitrato di stricnina.
3,43 pom.	Stessi fatti.
3,49 pom.	Accesso di tetano poco violento, seguìto da altri accessi più lievi. Dopo gli accessi, persistendo ipereccitabilità spinale, la corteccia cerebrale si mostrò quasi ineccitabile per circa un'ora. — Si sospende.

Per completare le osservazioni avrei voluto provare la eccitabilità della corteccia nel giorno successivo all'esperienza, specialmente nei casi in cui si era manifestato il tetano.

Ma le lesioni cerebrali che si riscontrano dopo 24 ore dalla operazione, per quante cautele si adoperino, sono tali, da non permettere assolutamente un tentativo di questo genere.

Si potrebbe, è vero, avvelenare l'animale il giorno prima e l'indomani procedere alla trapanazione: ma in tal caso mancherebbe il termine di confronto.

Si potrebbe scoprire il giorno dopo la zona omonima dell'altro lato e saggiarne l'eccitabilità; ma a questo procedimento si opporrebbero obbiezioni gravissime, tra cui segnatamente queste: 1°) non è certo se le zone motrici dei due lati godano dello stesso grado di eccitabilità normale; 2°) non sappiamo se e quanto i processi distruttivi originatisi in un lato possano coinfluenzare le zone omonime dell'altro lato.

Per queste considerazioni non ho creduto di procedere a tali esperienze.

Dalle esperienze riportate, confermate da tutte le altre che ho fatte nello stesso senso, parmi poter dedurre le seguenti conclusioni:

1° La stricnina esalta l'eccitabilità della zona motrice corticale, sempre però che non sopravvenga il tetano.

2° Quando le dosi impiegate sono tetanizzanti, allora vediamo in una prima fase rendersi più squisita l'eccitabilità corticale: dopo gli accessi di tetano invece la eccitabilità della corteccia appare molto depressa e qualche volta del tutto annullata.

3° Nella ipereccitabilità stricnica della zona motrice, vediamo alterarsi la delimitazione fisiologica dei singoli cen[illegible] motori: in quanto l'eccitazione di un centro diventa capace propagarsi ai centri vicini, e le zone limitrofe, fisiologicame[illegible] neutre, vengono ad acquistare i poteri fisiologici dei cent[illegible]

4° A produrre un accesso di emiepilessia sotto l'azio[illegible]

della stricnina bastano correnti di intensità assai minore di quelle che bisogna adoperare per ottenere simili accessi nelle condizioni normali (1).

Ed ora due parole di commento alle mie esperienze.

La prima conclusione dedotta si è che l'eccitabilità della corteccia sotto l'azione della stricnina diventa più squisita.

Qui si potrebbe domandare: tratta si veramente di una azione sulla zona motrice o di un accresciuto potere di trasmissione del midollo?

Io non esito ad affermare che si tratta di un'azione corticale, e l'argomento più convincente me lo dà il modo con cui si comporta l'eccitabilità corticale dopo gli accessi di tetano, quando ancora persiste nel M. S. la fase di eccitazione.

In questo stadio infatti vediamo deprimersi od annullarsi completamente l'eccitabilità della corteccia. Ciò vuol dire, a mio avviso, che la corteccia cerebrale è la prima a subire l'azione secondaria deprimente della stricnina, mentre se l'aumento di eccitabilità corticale che si ha nelle prime fasi dell'avvelenamento, e persistentemente quando si impiegano dosi non tetanizzanti, non fosse che apparente, se cioè non si trattasse in realtà che di un aumentato potere di conduzione del M. S., anche dopo l'accesso di tetano, quando ancora sussiste la fase di eccitazione nel M. S., non potrebbe apparir depressa l'eccitabilità corticale.

E questa azione della stricnina sulla sostanza grigia del cervello è diretta e non indiretta, cioè non secondaria ai cangiamenti della circolazione cerebrale. Sotto l'influenza di questa sostanza infatti si ha generale costrizione dei vasi periferici, la superficie cerebrale ci apparisce altamente ischemica, onde che per l'azione puramente od anche prevalentemente va-

(1) Ciò conferma i risultati ottenuti da Franck e Pitres, che videro r effetto della stricnina aumentarsi nei cani la tendenza alle convul-›ni epilettiche (*Archiv. de Physiol.*, 1884) e quelli ottenuti dal chiaıimo Prof. Albertoni (*Annali universali di Medicina*, 1879).

sale dovremmo ottenere il fatto inverso, la depressione cioè dell'eccitabilità corticale.

Ho detto che nell'ipereccitabilità stricnica della zona motrice si altera la delimitazione fisiologica dei singoli centri motori, in quanto la eccitazione anche debole di un centro diventa capace di propagarsi ai centri vicini, e l'eccitazione di zone neutre limitrofe ai centri dà anche fenomeni di movimento.

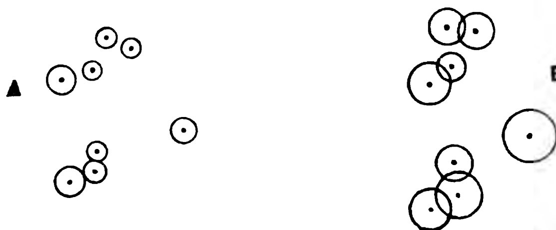
Ciò da una parte conferma sempre più la conclusione che si tratta veramente di un'azione corticale diretta; dall'altra ci spiega perchè sotto l'influenza della stricnina riesca di provocare, anche con deboli stimoli, accessi di emiepilessia, e perchè il Marcacci, nell'esperienza che ho ricordato in principio, potè vedere accessi di emiepilessia anche stimolando il cervello al di là dei limiti fisiologici della zona motrice.

Dalla fisiologia sappiamo che ogni singolo centro è costituito di un dato territorio di corteccia che si spande centripetamente ad un punto dotato della più squisita eccitabilità.

Quindi da un centro motore ad un altro o non esiste, od è appena accennata una vera zona neutra (1).

Ora sotto l'azione della stricnina si elarga il perimetro dei singoli centri, cosicchè queste varie zone vengono a compenetrarsi l'una nell'altra.

La figura schematica qui annessa rappresenta graficamente il fenomeno:



A. Centri corticali e loro aree nelle condizioni normali.

B. Centri corticali e loro aree sotto l'azione della stricnina.

(1) Naturalmente ciò va detto per i centri disposti ad aggruppamenti, e non per tutti. Così tra alcuni centri motori nelle condizioni normali corre uno spazio neutro abbastanza esteso.

Se questo è realmente il caso, come dalle mie esperienze io mi credo autorizzato a concludere, si capisce anche perchè un distretto corticale che nelle condizioni normali è posto fuori della zona motrice, venga ad essere compreso in questa zona quando facciamo agire la stricnina.

Resta a discutere il meccanismo probabile di azione della stricnina come sedativo nella dipsomania, come ipnotico nell'insonnio da eccessivo lavoro del sistema nervoso.

Le mie esperienze non dànno alcuna base razionale all'impiego della stricnina in questi stati morbosi. Tuttavia, se il fatto è clinicamente ben dimostrato, ciò che credo sia lungi dal potersi asserire, si potrebbe tentarne la spiegazione o per l'azione vaso-costrittrice della stricnina, che verrebbe così a togliere una delle cause maggiori dell'ipereccitazione corticale, la dilatazione cioè dei vasi della corteccia, o per un fenomeno di interferenza.

Nell'ipotesi di un'azione vasale, non varrebbe davvero la pena di ricorrere alla stricnina, potendo ottenersi migliori effetti con altri farmaci che, producendo costrizione vasale, non agiscono però sulla sostanza cerebrale.

Quanto all'ammettere che possa trattarsi di un fenomeno di interferenza, non è che questione di fede cieca, non potendo addursi prove nè in pro, nè in contro.

Certo però l'una o l'altra ipotesi valgono meglio a chiarire il fatto terapeutico, dato che realmente esista, di quello che non faccia la spiegazione del Lauder-Brunton che non può assolutamente accettarsi (1).

È inutile poi dimostrare che nel fatto terapeutico non può assolutamente invocarsi l'azione deprimente sulla sostanza cerebrale, che si verifica solo per le alte dosi, dopo gli accessi di tetano.

---

1) « The Practitioner », 1888.

Dalle mie esperienze sorge invece direttamente un'applicazione razionale della stricnina in tutti gli stati morbosi che sono caratterizzati od accompagnati da depressione della sfera psico-motrice.

Prima di por termine a questo lavoro, debbo ancora notare un fatto che ho osservato nelle mie ricerche.

In tutti gli animali, nei giorni successivi alle esperienze, si destarono processi di encefalite con distruzioni più o meno profonde nella zona motrice. Ciò ho potuto constatare all'autopsia degli animali, sacrificati quasi sempre in seguito ad esperienze di altra natura.

I conigli in generale risentono maggiormente gli effetti delle alterazioni cerebrali; sicchè mentre i cani solo eccezionalmente soccombono per causa dell'esperienza, i conigli invece dànno una mortalità piuttosto elevata.

Ora quasi mai ho notato fatti paralitici negli animali operati: che se qualche volta se ne ebbero esempi, si trattò sempre di stati paretici anzichè di vere paralisi non solo, ma queste forme di paresi svanirono ben presto, riprendendo tosto gli animali le attitudini fisiologiche.

Son lungi con ciò dal voler portare un contributo alle teoriche del Brown-Séquard che da parecchi anni va pubblicando osservazioni che contraddicono alla teoria delle localizzazioni cerebrali, poichè questa teoria posa oggi su fatti sperimentali e clinici così numerosi, così bene illustrati, da ritenerla fondata su base incrollabile.

Credo invece che queste osservazioni, diligentemente seguite, potranno concorrere alla risoluzione di alcuni problemi che oscurano ancora le funzioni cerebrali: perocchè in questi casi le alterazioni di dati territori della zona motrice non insorgendo repentinamente, ma gradualmente, lasciano tempo a che si stabiliscano compensi fisiologici o nelle zone limitrofe, o nelle omonime dell'altro lato, o nei gangli cerebrali sottostanti ai focolai distrutti. Su ciò potranno dar luce esperienze ulteriori.

Palermo, Dicembre 1891.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 11.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Padova
diretto dal Prof. A. STEFANI.

G. GALLERANI ed A. STEFANI

INTORNO AI CENTRI VISIVI DEI COLOMBI

ED ALLE FIBRE COMMESSURALI

Nell'anno 1881, in una comunicazione all'Accademia Medica di Ferrara, lo Stefani scriveva (1):

« Ad un colombo, privo da un mese dell'emisfero sinistro, il quale pareva cieco dall'occhio destro, o, per meglio dire, non si allontanava, se si allungava la mano per prenderlo, levai l'occhio sinistro. Nel primo giorno consecutivo all'operazione il colombo pareva cieco affatto; si lasciava prendere senza fare alcun movimento; non si portava più nel suo luogo favorito; e tanto meno mangiava e beveva da sè. Nel 2°-3° giorno, quando la mano stava per afferrarlo, faceva un movimento come per ischivarsi. Nei giorni successivi ricominciò a portarsi nel suo luogo favorito; e fu anche visto spiccare un volo, quando non vi poteva giungere camminando, in causa di ostacoli, che gli sbarravano la via. In un'epoca ulteriore, se un altro colombo andava ad occupare il suo posto, mentre egli girava su e giù per la stanza, si moveva subito per assalirlo

(1) A. Stefani, « Alcuni fatti sperimentali in contribuzione alla fisiologia dell'encefalo dei colombi » (*Accad. Medica di Ferrara*, 1881).

e cacciarlo di là. Finalmente, un mese dopo l'amputazione dell'occhio, lo vidi mangiare e bere da sè, scegliendo i grani di riso fra quelli di frumento e di mais ». (Vedi Fig. 1).

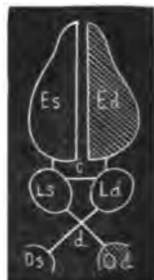


FIG. 1. — Figura schematica, rappresentante gli emisferi cerebrali, i lobi ottici e gli occhi del colombo colle relative vie nervose. — *Es*, emisfero sinistro; *Ed*, emisfero destro; *Ls*, lobo ottico sinistro; *Ld*, lobo ottico destro; *Os*, occhio sinistro; *Od*, occhio destro; *c*, fibre commessurali fra i due lobi ottici; *d*, chiasma dei nervi ottici. Asportato l'emisfero e l'occhio dal lato corrispondente, la visione psichica si ristabilisce da parte dell'altro occhio.

Nell'anno 1883, in una comunicazione all'Accademia delle Scienze di Berlino, il Munk scriveva (1):

« Se ad un colombo, 3-4 settimane dopo l'asportazione dell'emisfero destro, od anche più tardi, si leva l'occhio destro, nei primi 3-4 giorni dopo l'operazione, esso si comporta come i colombi dopo la completa asportazione degli emisferi cerebrali; differisce da questi solo per ciò, che sta coll'occhio aperto e non tiene il capo ritirato fra le ali, ma eretto, come i colombi normali. Nei giorni successivi, evita talora gli ostacoli che si oppongono alla sua locomozione, e talora si spaventa, se si allunga la mano dal lato sinistro. Altri mutamenti avvengono nella 2ª-3ª settimana. Verso il 10° giorno il colombo becca il grano, prima di raro e poi più di frequente, e perciò si può sospendere l'alimentazione artificiale. Da questo momento... muove il capo; si slancia al volo;... si appoggia regolarmente sugli oggetti; nel camminare evita gli ostacoli; solo di raro sorpassa l'orlo del tavolo; si spaventa, se si allunga verso di lui la mano dall'innanzi, e non si spaventa, se la mano gli si avvicina dall'alto o dall'indietro ».

Fatta astrazione da qualche particolarità, su cui non crediamo ora opportuno di insistere, tanto il Munk quanto lo

(1) H. Munk, « Ueber die Functionen der Grosshirnrinde. Gesammelte Mittheilungen mit Anmerkungen », 2. Aufl. Berlin, 1890, p. 206-207.

Stefani osservarono dunque nei colombi il ritorno delle funzioni visive più elevate, da parte dell'occhio opposto all'emisfero mancante, in seguito all'asportazione dell'occhio a questo emisfero corrispondente. Mentre però lo Stefani pubblicava questo fatto nel 1881, il Munk lo pubblicava solo nel 1883 (1).

Dopo questa storica esposizione, siamo d'avviso, che molti, come noi, non riesciranno a comprendere, come il Munk abbia potuto scrivere, che le esperienze dello Stefani non contengono nulla di nuovo, e non sono che ripetizione di esperienze, già fatte dal Lussana (2).

Il Lussana non ha mai osservato, nè scritto, che le funzioni visive più elevate ricompaiono nei colombi, da parte dell'occhio opposto all'emisfero che manca, in seguito alla asportazione dell'altro occhio. Egli dice solo, che i colombi, i quali paiono completamente ciechi dall'occhio opposto all'emisfero levato, acquistano, da parte di quest'occhio, la visione propria dei colombi scervellati, se viene ad essi levato l'occhio, per mezzo del quale vedono normalmente. Questi colombi evitano cioè gli oggetti nel camminare e nel volare; ma non mangiano da sè, nè si spaventano, se si allunga la mano per prenderli (3).

Noi che siamo stati assistenti del Lussana, sappiamo, quanto meravigliato egli fosse del fatto osservato dallo Stefani.

---

(1) Il fatto surriferito non deve quindi essere battezzato col nome del Munk, siccome fece il *Centralblatt f. Physiol.*, 1889, n. 14, p. 323 nella Relazione del Congresso di Basilea.

(2) H. Munk, l. c., p. 215.

(3) Lussana e Lemoigne, « Fisiologia dei centri nervosi encefalici », vol. I, p. 14-15, Padova, 1871. — Sembra che anche lo Schrader, « Ueber die Stellung des Grosshirns im Reflexmechanismus des centralen Nervensystems der Wirbelthiere » (*Archiv für exper. Path. u. Pharm.*, 29 B, p. 85, luglio 1891), attribuisca al Lussana l'osservazione, che un colombo senza un emisfero riacquista le funzioni visive più elevate dall'occhio opposto, se viene levato l'occhio corrispondente. Ripetiamo, con perfetta coscienza di causa, che in tali circostanze il Lussana notò solamente il ritorno di quella visione, che si verifica nei colombi scervellati.

Lo **Stefani** nel Congresso di Basilea fece noto, che se ad uno di questi colombi, privo dell'occhio e dell'emisfero cerebrale dello stesso lato, nel quale le funzioni visive più elevate si sono ristabilite da parte dell'occhio opposto, si leva il lobo ottico dal lato, dove mancano l'occhio e l'emisfero (vedi fig. 2),

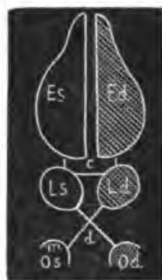


Fig. 2. — Questa figura rappresenta le stesse cose come la precedente. Solamente le parti asportate, in questo caso sono l'emisfero, l'occhio ed il lobo ottico dello stesso lato, *Ed*, *Ld*, *Od*.

l'animale ritorna e rimane cieco per tutta la vita; e in base a questo fatto concluse, che la ricomparsa delle funzioni visive più elevate, da parte dell'unico occhio, che si trova dallo stesso lato dove si trova l'unico emisfero, e quindi la congiunzione fisiologica fra l'occhio e l'emisfero dello stesso lato, deve essere attribuita alle fibre commessurali, che congiungono i due lobi (fig. 3, *c*).

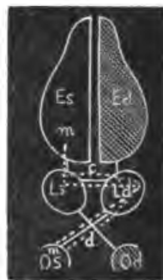


Fig. 3. — Questa figura rappresenta le stesse cose come le precedenti; sono asportati l'occhio e l'emisfero dello stesso lato, come nella prima, e la linea punteggiata *mm* rappresenta la via per cui, secondo il nostro avviso, l'emisfero sinistro conservato si mette in rapporto coll'occhio del medesimo lato.

Questa opinione, in precedenza, era stata emessa dal **Gallerani** (1), in base ad osservazioni istologiche dalle quali risultava, che nei colombi la decussazione dei nervi ottici è completa.

---

(1) G. **Gallerani**, « Contributo alla fisiologia delle commessure encefaliche ». Tesi per libera docenza. Padova, 1888.

Dato che questa decussazione sia veramente completa, la commessura fra i lobi ottici sarebbe l'unica via, anatomicamente conosciuta, per cui l'occhio può mettersi in rapporto coll'emisfero cerebrale del medesimo lato.

Il Munk, nella comunicazione all'Accademia delle Scienze di Berlino, aveva sostenuto, che la visione si ristabiliva nell'occhio del lato corrispondente al solo emisfero posseduto dall'animale, perchè la decussazione dei nervi ottici non è com-

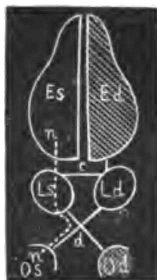


Fig. 4. — Figura schematica come le precedenti. La linea punteggiata *nn*, rappresenta la via per cui, secondo il Munk, l'emisfero si mette in rapporto coll'occhio dello stesso lato.

pleta (vedi fig. 4). E a pag. 215-216 del libro sopracitato, affidandosi al resoconto del Congresso di Basilea, apparso nel *Centralbl. f. Physiol.*, 1889, n. 14, nel compilare il quale il relatore incorse nell'errore, tanto facile, di scambiare il lobo ottico dell'uno con quello dell'altro lato, dichiara, che l'esperienza dello Stefani dimostra solamente, che nelle circostanze sopraindicate l'unione della retina coll'emisfero dello stesso lato viene interrotta per mezzo della distruzione del lobo ottico pure dello stesso lato, e che perciò la detta esperienza costituisce anzi una conferma della sua dottrina.

Non avremmo mai supposto in un collega tanta ingenuità da credere, che l'esperienza, quale fu riferita nel *Centralbl.*, potesse essere dallo Stefani invocata per provare, che l'unione fra l'occhio e l'emisfero dello stesso lato si fa per mezzo del lobo ottico dell'altro lato. Se lo Stefani volea provare che le eccitazioni visive passavano attraverso *Ld* (fig. 3), egli dovea dimostrare, che la distruzione di questo lobo *Ld*, non dell'altro *Ls*, produceva la cecità.

Se ci fossimo trovati nella condizione del Munk, avremmo

pensato anzitutto ad un *lapsus calami*, che poteva facilmente essere verificato; e se questo dovea essere escluso, avremmo considerate le conclusioni dello **Stefani** non meritevoli di considerazione.

Ma cosa dobbiamo pensare della critica del **Munk**, quando, dopo avere riportata la esperienza dello **Stefani**, quale sta scritta nel *Centralbl.*, riporta poco dopo da una Comunicazione del **Gallerani** al Congresso Medico di Padova, il medesimo esperimento, ma senza l'errore in cui era incorso il relatore del *Centralbl.?* « Entfernt **Gallerani** den Lobus opticus der dem erhaltenen Auge, und der erhaltenen Hämisphäre gegenüberliegenden Seite » .

L'intervento delle fibre, che uniscono fra di loro i due lobi ottici, nel ristabilimento della funzione visiva, ha una importanza di carattere generale, perchè dimostra, che le fibre commessurali possono, in date circostanze, diventare vie d'unione fra i centri e la periferia, e prendere parte in tal modo ai fenomeni di sostituzione. E, in conseguenza di ciò, importava di provare sperimentalmente, nel modo più sicuro possibile, che nelle condizioni di esperimento sopraindicate la trasmissione delle eccitazioni nervose, dall'occhio all'emisfero dello stesso lato, si fa attraverso le fibre che uniscono fra di loro i due lobi ottici.

A tale scopo:

1° Abbiamo ripetuto più volte l'esperimento dello **Stefani**, e il risultato di queste esperienze è stato sempre, concordemente, il medesimo: le funzioni visive più elevate, ricomparse da parte dell'unico occhio, che si trova dallo stesso lato dove si trova l'unico emisfero conservato, scompaiono immediatamente e permanentemente, se si distrugge il lobo ottico opposto all'occhio ed all'emisfero conservati (fig. 2).

2° Abbiamo variato la medesima esperienza, asportando contemporaneamente emisfero, lobo ed occhio del medesimo lato, ed abbiamo costantemente verificato che, dopo una simile operazione il colombo diventava e rimaneva psichicamente

cieco. La cecità psichica fu verificata anche 8 mesi dopo l'operazione.

3° Abbiamo asportato il lobo ottico e l'occhio dal lato corrispondente, per verificare, se la decussazione dei nervi ottici è, o non è completa (vedi fig. 5). Se la decussazione è completa, dopo simile operazione il colombo deve diventare e rimanere cieco per tutta la vita; e se non è completa, la cecità non deve verificarsi, o almeno deve scomparire dopo breve tempo. Il risultato di queste esperienze è stato, che quando il lobo ottico veniva distrutto completamente, o quasi, il colombo non solo diventava, ma rimaneva psichicamente cieco; non beccava più il grano, e per conservarlo in vita lo si dovea alimentare artificialmente. In qualche caso, la cecità psichica perdurò, benchè del lobo ottico ne fosse rimasto integro un terzo circa, dal lato interno. E perciò, in base a queste esperienze, devesi concludere, che la decussazione dei nervi ottici nei colombi, è completa.



Fig. 5. — Questa figura serve per dimostrare che la distruzione del lobo ottico e dell'occhio corrispondente non dovrebbe produrre la cecità, se la decussazione dei nervi ottici non fosse completa.

4° Onde verificare, se per avventura esistessero fibre decussative fra un lobo ottico e l'emisfero opposto (*o*, *o*, fig. 6), ricomparse le funzioni visive più elevate dopo l'asportazione dell'emisfero e dell'occhio corrispondente, abbiamo distrutto il lobo ottico, non dal lato dell'emisfero e dell'occhio che mancavano, ma dall'altro. Se il collegamento dell'emisfero coll'occhio dello stesso lato si faceva per mezzo di queste ipotetiche fibre decussative, la detta operazione non avrebbe dovuto turbare la funzione visiva ristabilita; mentre avrebbe dovuto produrre il ritorno della cecità, nel caso, che il colle-

gamento fra l'occhio e l'emisfero dello stesso lato si fosse effettuato per mezzo delle fibre commessurali fra i due lobi. Il risultato di questi esperimenti è stato sempre la ricomparsa immediata e permanente della cecità psichica.

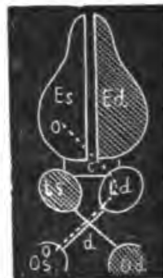


Fig. 6. — Figura schematica come le precedenti. Rappresenta la mancanza dell'emisfero destro, del lobo ottico sinistro e dell'occhio destro: — *od*, supposte fibre decussative fra il lobo ottico destro e l'emisfero sinistro.

5° Abbiamo modificata l'esperienza sopraindicata, asportando contemporaneamente occhio ed emisfero di un lato e lobo ottico dell'altro, e abbiamo sempre verificato, che dopo simile operazione le funzioni visive elevate non ritornavano più.

6° Abbiamo asportato contemporaneamente il lobo ottico di un lato e l'emisfero dell'altro (vedi fig. 7). Se esistono le supposte fibre decussative, questa operazione non deve essere seguìta da cecità, o almeno la cecità deve essere semplicemente transitoria. E invece, dopo tale operazione, quando l'asportazione del lobo e dell'emisfero era riuscita completamente, abbiamo sempre notato cecità permanente.

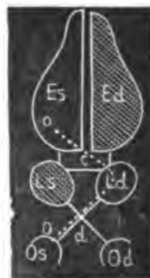


Fig. 7. — Figura schematica come le precedenti. Si dimostra, che in seguito alla mancanza dell'emisfero e del lobo ottico del lato opposto, se esistono fibre decussatorie fra i lobi e gli emisferi, non dovrebbe verificarsi cecità da parte dell'occhio opposto all'emifero asportato.

7° Abbiamo ripetutamente tentato di tagliare la commessura fra i due lobi nei colombi privi dell'emisfero e dell'occhio corrispondenti, nei quali la funzione visiva si era ristabilita

per vedere se ritornava la cecità, ma sempre infruttuosamente.

Ricordiamo, che dopo la distruzione dei due lobi, risparmiando il tratto ottico, si ottiene solamente la cecità che si osserva dopo l'asportazione degli emisferi, non la cecità assoluta, quale si nota dopo l'asportazione dei bulbi oculari. Questo fatto fu notato dallo Stefani nel 1881 (1), e di recente fu confermato dallo Schrader (2).

E così pure notiamo, che i fatti sperimentali surriferiti si riferiscono a colombi nei quali per mezzo della sezione cadaverica fu poi trovato, che l'asportazione dell'emisfero, e rispettivamente del lobo ottico, escluso il tratto ottico e dell'occhio, era riuscita completamente.

Il lobo ottico fu distrutto nel modo indicato dallo Stefani nella comunicazione all'Accademia di Ferrara (3), levando con un coltello l'osso che gli sta sopra, spaccando la dura madre con un taglio dall'interno all'esterno, senza offendere la grossa vena che si trova nella località, ed asportando a riprese, mediante un cucchiaio, introdotto per la fatta apertura, la sostanza di cui il lobo ottico si compone.

L'emisfero cerebrale fu levato nel solito modo, ed il bulbo oculare asportato tagliando il nervo ottico.

In base di tutte queste esperienze, e in base anche alle osservazioni istologiche del Gallerani, relative alla decussazione dei nervi ottici, benchè infruttuosi siano riusciti i tentativi per tagliare isolatamente la commessura fra i lobi òttici, crediamo di potere con sicurezza concludere, che *nei colombi, i quali mancano di un emisfero e dell'occhio corrispondente, il ristabilimento delle funzioni visive più elevate, e quindi il collegamento fisiologico fra l'occhio e l'emisfero dello stesso lato si effettua per mezzo delle fibre commessurali,*

---

(1) A. Stefani, « Alcuni fatti sperimentali in contribuzione alla fisiologia dell'encefalo dei colombi » (*Accad. Med. di Ferrara*, 1881).

(2) V. Schrader, « Ueber die Stellung des Grosshirns im Reflexmechanismus, etc. » (*Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 29 B., pag. 86 e seg. 1891).

(3) A. Stefani, l. c.

che congiungono i due lobi. E per conseguenza, in via più generale, concludiamo, che le fibre commessurali possono diventare vie di unione fra la periferia ed i centri, quando le vie ordinarie sono interrotte, e prendere parte così ai fenomeni di sostituzione.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 12.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Padova.
(Prof. A. Stefani).

DELL'AZIONE DELL'ASFISSIA SUI VASI CEREBRALI

CONTRIBUTO SPERIMENTALE

DEL DOTTOR
A. CAVAZZANI
Assistente.

Dopochè Ludwig e Thiry dimostrarono che durante l'asfissia si restringono le arterie del tronco e delle estremità, rimase nella scienza il concetto, che l'irritazione del centro vasomotore del midollo allungato facesse sentire la sua azione sul lume di tutte le arterie, quantunque con diversa intensità nei varî territorî vascolari. Tale concetto subì poi una restrizione pei lavori di Heidenhain e Grützner (1), dai quali risultò dimostrato, che la costrizione vasale determinata dall'asfissia si verifica soltanto nei vasi innervati dallo splancnico, mentre i vasi cutaneo-muscolari presentano nell'asfissia una dilatazione attiva. Lo Zuntz poco dopo (2) portò la medesima conclusione per i vasi dell'orecchio, i quali pure si dilatano in seguito alla sospensione del respiro. E Dastre e Morat (3)

1) Heidenhain u. Grützner, « Beiträge zur Kenntniss der Gefässinnervation » (*Pflüger's Arch.*, vol. 16, pag. 1).
2) Zuntz, « Beiträge zur Kenntniss der Einwirkung der Athmung auf dem Kreislauf » (*Pflüger's Arch.*, vol. 17, pag. 374).
3) Dastre e Morat, « Influence du sang asphyxique sur l'appareil nerveux de la circulation » (*Arch. de physiol. norm. et path.*, 1884, p. 1).

osservarono che, oltre ai vasi cutanei, si dilatano anche i vasi della mucosa boccale.

Di fronte a questi risultati diventava interessante particolarmente definire, in qual modo reagissero all'asfissia i vasi cerebrali, essendo il cervello l'organo che primo risente i dannosi effetti della sospensione del respiro. Le prime ricerche dirette in tal senso, di Donders, di Ackermann, di Jolly, di Krauspe, non potevano al certo bastare, essendo esse basate sulla semplice ispezione diretta delle meningi. Donders (1) osservò per primo che durante la dispnea il color rosso della pia madre diventa più carico, e che sotto al microscopio diventano visibili dei ramoscelli arteriosi sempre più fini. — Ackermann (2) vide che al principio della dispnea (ottenuta stringendo con un laccio il collo, oppure la trachea isolata), il color roseo della superficie del cervello si trasforma gradatamente in un color rosso-bluastro, cianotico, e che, alcuni secondi prima della morte, subentra ad esso un colore sempre più pallido, fino alla morte dell'animale. A quest'anemia cerebrale egli attribuisce le convulsioni che insorgono nell'asfissia. — Jolly (3) trovò che si ha aumento della quantità di sangue al principio dell'asfissia, e che invece non compare mai pallore della superficie del cervello, neppure prima della morte. — Krauspe (4) verificò che la sospensione del respiro determina considerevole replezione dei vasi e comparsa di ramoscelli arteriosi e venosi prima non visibili, i quali dopo circa un minuto e mezzo scompaiono di nuovo.

La prima applicazione metodica degli apparecchi grafici allo

---

(1) Donders, « Die Bewegungen des Hirns u. die Veränderungen der Gefässfüllung der Piamater, auch bei geschlossenem u. unausdehnbarem Schädel unmittelbar beobachtet » (*Schmidt's Jahrb.*, 1851, vol. 69, p. 161).

(2) Ackermann, « Untersuchungen über den Einfluss der Erstickung auf die Menge des Blutes im Gehirn u. in den Lungen » (*Virchow's Ar* 1858, vol. 15, p. 401).

(3) Jolly, « Untersuchungen über den Gehirndruck u. über die B bewegung im Schädel », Würzburg, 1871, p. 38.

(4) Krauspe, « Ueber die reflectorische Beeinflussung der Pias rien » (*Virch. Arch.*, 1874, vol. 59, pag. 488).

studio della circolazione cerebrale appartiene allo Schulten (1). Egli osservò nella dispnea un aumento della pressione del liquido cefalo-rachidiano, a cui dopo quattro minuti seguiva una diminuzione. L'aumento della pressione egli l'attribuisce ad un arresto dell'efflusso venoso, consecutivo alla sospensione del respiro. Poco tempo dopo, il Knoll (2) osservò che durante l'asfissia diventano più manifesti i ramoscelli dell'arteria spinale posteriore: ammise però potersi ciò spiegare col fatto, che diventa più oscuro il sangue in essi contenuto. Riguardo alla pressione del liquido cerebro-spinale, egli notò un aumento analogo a quello, che si verifica nella pressione arteriosa; l'aumento della pressione del liquido cerebro-spinale però precede spesso l'aumento della pressione sanguigna, e qualche volte perdura anche dopo la comparsa del polso del vago, quando già è cessato l'aumento della pressione arteriosa. Ad onta di ciò, secondo il Knoll, questo fatto non dimostra una modificazione attiva del calibro dei vasi cerebrali, poichè può esser spiegata diversamente: e secondo lui, le arterie cerebrali non partecipano alla contrazione generale delle piccole arterie, dalla quale dipende l'aumento dispnoico della pressione arteriosa. In opposizione a Knoll, Falkenheim e Naunyn (3) fecero osservare che, prima dell'aumento dispnoico della pressione sottoaracnoidale, è dimostrabile una piccola diminuzione della medesima, della durata di uno a due minuti, alla quale non corrisponde alcuna contemporanea oscillazione della pressione sanguigna. Essi pensano perciò che *durante la dispnea non manchi per intero una costrizione delle piccole arterie cerebrali, ma che essa sia poco*

---

(1) Schulten, « Experimentelle Untersuchungen über die Circulationsverhältnisse des Auges, u. über den Zusammenhang zwischen den Circulationsverhältnissen des Auges u. des Gehirns » (*Arch. f. Ophthalmo-*
7ie, vol. XXX, 1884, IV, 69).

2) Knoll, « Ueber die Druckschwankungen in der Cerebrospinal-
ssigkeit u. den Wechsel in der Blutfülle des centralen Nervensystems »
itzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss., 1886, vol. XCIII, p. III, pag. 252).

(3) Falkenheim u. Naunyn, « Ueber Hirndruck » (*Arch. f. experim.*
ıthol. u. Pharmacol., vol. XXII, pag. 290).

energica, e venga sopraffatta tosto dall'aumento maggiore della pressione generale. Ma anche questi risultati furono ben presto infirmati da Gärtner e Wagner (1), i quali durante la dispnea constatarono che non diminuisce l'efflusso di sangue dalle vene cerebrali, ma che al contrario aumenta proporzionalmente all'aumento della pressione generale: fatto dal quale essi deducono che nell'asfissia non ha luogo alcuna costrizione dei vasi cerebrali. Invece il Cramer, parecchi anni prima (2), aveva visto che nel cane, in seguito alla sospensione del respiro, si verifica un aumento, talora considerevole, della pressione nelle vene cerebrali, e che alla ripresa del respiro, o per il sopraggiungere della morte per soffocazione, subentra ad esso una diminuzione della pressione assai più al di sotto del normale.

Per decidere fra tutti questi risultati disaccordi, Hürthle (3) eseguì recentemente una nuova serie di ricerche. Attribuendo giustamente l'incertezza di tali risultati all'imperfezione dei metodi usati (ispezione diretta, volume, pressione, efflusso dalle vene), egli fece ricorso ad un metodo nuovo d'indagine, assai ingegnoso, consistente nel confronto delle modificazioni che subisce la pressione arteriosa in due punti successivi dell'albero arterioso che dal cuore va al cervello, e nell'istituzione, fra questi due valori, di un rapporto, il quale (ottenuto colle dovute cautele), esprime esattamente la somma delle resistenze, opposte alla circolazione dalle diramazioni arteriose del cervello. Stabilito il valore del proprio metodo, l'Hürthle, in base alle sue esperienze, ammette che nella dispnea avvenga una dilatazione attiva dei vasi cerebrali, dilatazione che è ancor più forte nel momento in cui si riaprono le vie aeree:

---

(1) Gärtner u. Wagner, « Ueber den Hirnskreislauf » (*Wiener medizinische Wochenschrift*, 1887, n. 19-20, pag. 603).

(2) Cramer, « Experimentelle Untersuchungen über den Blutdruck i Gehirn » (*Dissert. Dorpat*, 1873).

(3) Hürthle, « Beiträge zur Hämodynamik. III. Abh. Untersuchunge über die Innervation der Hirngefässe » (*Pflüger's Arch.*, vol. 44, 188[illegible] pag. 590).

la morte per asfissia sarebbe talora preceduta da una costrizione dei vasi cerebrali.

Ultimamente comparvero altri quattro lavori sull'interessante argomento: senza parlare dei lavori di Geigel (1) e di Lewy (2), i quali non portano alcun fatto sperimentale, ricorderemo le conclusioni alle quali giunsero Roy e Sherrington da una parte e De Boeck e Verhoogen dall'altra. Roy e Sherrington (3) scrivendo il volume del cervello mediante un oncografo, stabilirono che l'asfissia aumenta il volume del cervello, ma non parallelamente all'aumento della pressione arteriosa: e siccome nelle vene non si ha alcun aumento corrispondente di pressione, essi ne conclusero che devesi ammettere necessariamente una dilatazione attiva dei vasi cerebrali. De Boeck e Verhoogen (4) infine, avendo constatato, come Gärtner e Wagner, durante l'asfissia un notevole aumento dell'efflusso sanguigno dalle vene del cervello, ma avendo osservato che questo comincia prima e dura più a lungo, che non l'aumento della pressione generale, conclusero essi pure per una dilatazione attiva dispnoica dei vasi cerebrali.

Da questa rapida rassegna dei principali lavori pubblicati sull'argomento, risulta dunque ammessa da tutti una dilatazione dei vasi cerebrali, prodotta dalla sospensione del respiro: dilatazione semplice, sia attiva, sia passiva, è ammessa da Donders, Krauspe, Schultén, Knoll, Gärtner e Wagner, Cramer, Roy e Sherrington, De Boeck e Verhoogen: — dilatazione, seguìta da costrizione premortale, è ammessa da Ackermann e confermata da Hürthle; — dilatazione, seguìta da costrizione *post mortem*, è ammessa

(1) Geigel, « Die Circulation im Gehirn, u. ihre Störungen » (*Virch. h.*, vol. CXIX).
(2) Lewy, *Virchow's Arch.*, vol. CXXII.
(3) Roy and Sherrington, « On the regulation of the blood-supply he brain » (*Journ. of physiol.*, XI, 1890, 85-108).
(4) De Boeck et Verhoogen, « Contribution à l'étude de la circula- cérébrale » (Instit. Solvay. Brüssel) Brüssel, Lamertin, 1890.

da Jolly: — soltanto **Falkenheim** e **Naunyn** sostengono che la dilatazione sia preceduta da una debole e fugace costrizione.

La difficoltà massima nello studio della questione è rappresentata dall'impossibilità di separare la circolazione cerebrale dall'influenza che possono esercitarvi le oscillazioni della pressione generale. Per consiglio del Prof. A. **Stefani**, ho tentato di evitare tale difficoltà con una duplice serie di esperienze. In una prima serie ho ricercato quale azione spieghi il sangue asfittico direttamente sui vasi cerebrali, sottratti all'influenza del sistema nervoso vasomotore. Nella seconda serie di esperimenti, ho sottratti alla circolazione tutti i territorî vasali, tranne quello del cervello, e determinato come si comporti la pressione arteriosa durante l'asfissia in tali condizioni.

SERIE I.

Gli animali adoperati in queste prime esperienze furono cani e conigli. Il metodo d'indagine consisteva nella circolazione artificiale attraverso i vasi cerebrali, immediatamente dopo ucciso l'animale, con due specie di sangue, sangue arterioso e sangue dispnoico. Il sangue era di bue, freschissimo, defibrinato colla sbattitura, filtrato e diluito con tre volumi della soluzione fisiologica di cloruro sodico. Una metà di questo era reso asfittico mediante l'aggiunta di alcune gocce di solfuro d'ammonio: non ho cercato di determinare la quantità esatta di solfuro d'ammonio che deve esser aggiunta, per privare sufficientemente d'ossigeno il sangue; soltanto faccio osservare che l'aggiunta del solfuro d'ammonio deve esser fatta cautamente, e che, dopo ogni nuova aggiunta è bene aspettare alcuni minuti, rimescolando il sangue, fin
si raggiunga il colorito scuro desiderato. Un eccesso del
furo d'ammonio può alterare i risultati dell'esperimento.
animali venivano uccisi mediante dissanguamento. La cir
lazione artificiale veniva eseguita colle regole e colle cau

da me descritte altre volte (1), avendo attenzione sopra tutto a tre condizioni: 1) costanza della temperatura del sangue circolante; 2) costanza della pressione; 3) eliminazione di qualsiasi ritardo, od interruzione, nella corrente sanguigna, e specialmente nel momento in cui si sostituisce la circolazione col sangue asfittico, alla circolazione col sangue arterioso, sapendosi che ogni interruzione della corrente determina un successivo aumento della velocità di efflusso.

Non mi dilungherò a riferire l'andamento di ogni singolo esperimento; soltanto ne riporterò qui sotto alcuni esempi. La conclusione che ne potei trarre, è, che *il sangue reso asfittico col solfuro d'ammonio spiega un'azione dilatatrice sui vasi cerebrali sottratti all'influenza dei centri nervosi vasomotori.* L'intensità di tale dilatazione è assai varia, e può giungere fino quasi a quadruplicare la velocità di efflusso dalle vene cerebrali: la sua durata è pure assai varia, tantochè la dilatazione vasale talvolta cessa appena si sospende la circolazione del sangue asfittico, talvolta invece perdura qualche tempo, anche dopo ripresa la circolazione del sangue arterioso.

Altre particolarità intorno alla dilatazione vasale provocata dal sangue dispnoico, per una sua azione diretta sulle pareti vasali, io non cercai di determinare, essendo troppo diversa dalla norma la condizione colla quale rendevo dispnoico il sangue.

Esperimento I.

Circolazione artificiale attraverso ai vasi cerebrali (pressione 140 mm. Hg.).

Cmc. di sangue fluiti dalle vene in un minuto	
durante la circolazione di sangue arterioso	durante la circolazione di sangue asfittico
12,5-12,5-12,5	
	35-48-48-48
31-30-23-16-11	
	46-51-48

(1) A. Cavazzani e G. Rebustello, *Arch. per le Scienze Mediche*, vol. XV, n. 1.

Esperimento II.

Circolazione artificiale attraverso ai vasi cerebrali
(pressione 100 mm. Hg.).

Cmc. di sangue fluiti dalle vene in un minuto	
durante la circolazione di sangue arterioso	durante la circolazione di sangue asfittico
95-100-100	192-192
75-80	112-120-120

Esperimento III.

Circolazione artificiale attraverso ai vasi cerebrali
(pressione 50 mm. Hg.).

Cmc. di sangue fluiti dalle vene in un minuto	
durante la circolazione di sangue arterioso	durante la circolazione di sangue asfittico
45-53-56-56-56	50-53-53-60-64-60-56-50-47-47
42-41-37-33-33-33-33	

In base a questi primi esperimenti si poteva forse ritenere esaurito il mio cómpito, poichè i risultati dei medesimi concordavano perfettamente con quanto viene ammesso dalla generalità dei fisiologi: e si poteva per conseguenza venire alla conclusione che realmente i vasi cerebrali si dilatassero durante l'asfissia, e che questa dilatazione dipendesse (almeno in parte) dall'azione diretta del sangue asfittico sulle pareti dei vasi. A questa medesima conclusione sembravano invitare le osservazioni del Mosso (1) sui vasi renali, i quali si restringono durante la circolazione di sangue dispnoico: se cioè il

(1) A. Mosso, « Sopra alcune nuove proprietà delle pareti dei vasi sanguigni » (*Giornale dell'Accad. di Med. di Torino*, 1875).

sangue dispnoico fa restringere, anche dopo la morte dell'animale, quei vasi, che si restringono effettivamente durante la dispnea (causando l'aumento della pressione generale), si poteva dedurre che analogamente si dilatassero davvero, durante la dispnea, i vasi cerebrali, che dopo la morte vediamo dilatarsi per azione diretta del sangue asfittico. Così si spiegherebbero e l'aumento della pressione generale che ha luogo durante la sospensione del respiro, ed il meccanismo automatico, che regolerebbe la circolazione nei diversi organi a seconda dei loro bisogni fisiologici.

Senonchè a me sembrava imprudente l'affidarmi ai fatti che si verificano nel cadavere, per dedurre delle conclusioni relativamente ad un fenomeno così complesso, com'è l'aumento della pressione arteriosa provocato dalla dispnea. Aggiungasi che il metodo da me scelto per rendere asfittico il sangue, metodo al quale ero ricorso per la sua prontezza e semplicità, non può dare la sicurezza assoluta, che i fenomeni provocati dal sangue asfittico dipendano dalla sottrazione dell'ossigeno ai tessuti. La dilatazione vasale da me verificata potrebbe esser attribuita semplicemente alla presenza del solfuro d'ammonio. Per questi motivi procedetti alla seconda serie di ricerche.

SERIE II.

Il principio direttivo di queste ricerche consisteva, come si è detto, nell'eliminare dall'irrigazione sanguigna tutti i territori vascolari, tranne quello dell'encefalo, per vedere quali modificazioni questa regione vasale potesse determinare da sola nella pressione arteriosa.

Legavo a tal fine, in grossi cani curarizzati e sostenuti in vita colla respirazione artificiale, le arterie ascellari, le carotidi terne e l'aorta toracica, lasciando aperte unicamente le caroli interne e le vertebrali. Per impedire che la legatura del-orta toracica avesse a turbare eccessivamente i risultati delle perienze, per l'ischemia del midollo spinale, e per avere nello

stesso tempo dei fatti di confronto, non applicavo su questa un laccio permanente, ma la avvolgevo con un'ansa di filo assai grosso, che introducevo colla mano attraverso ad uno spazio intercostale inciso, e lasciavo poi sporgere coi due capi all'esterno. Così la chiusura dell'aorta poteva esser fatta a qualunque momento dell'esperienza ed interrotta a volontà. Preparato ciò, recidevo una carotide e vi applicavo due cannule, una centripeta, l'altra centrifuga, le quali stavano in relazione con due manometri a mercurio, e, per mezzo di due tamburini di Marey, con un poligrafo affumicato. Come liquido anticoagulante adoperavo la soluzione di solfato di magnesia al 25 %.



Fig. 1.

Nell'esperimento ottenevo da prima un tracciato della pressione aortica e del circolo del Willis, durante il respiro e durante la dispnea, mantenendo aperta l'aorta toracica. Poi, ripresa la respirazione, e tornata la pressione al normale, chiudevo l'aorta, attendevo che la pressione normale ridiscendesse (dall' altezza raggiunta per questo fatto) fino quasi al normale, ed in allora sospendevo nuovamente il respiro. Il primo tracciato serviva di confronto per escludere la possibilità di errori dipendenti da condizioni particolari anomale degli animali esperimentati: in alcuni casi però lo omisi, per accertarmi se anche la prima sospensione del respiro spiegasse la stessa azione che spiegano le sospensioni successive.

Il risultato più importante di questi esperimenti fu c durante la sospensione del respiro, si innalza la pressione

teriosa, anche quando il cuore spinge il sangue solo nei vasi cerebrali; tale aumento appare manifesto dai tracciati qui uniti (fig. 1).

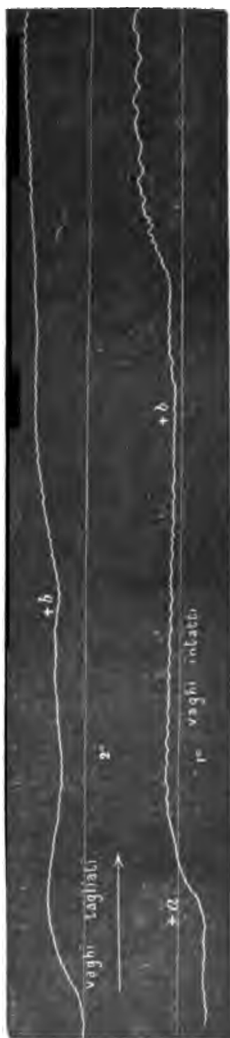


Fig. 2.

Se ora, nelle condizioni sopradescritte, l'asfissia riesce ancora a determinare aumento della pressione, ciò non può succedere che per tre cause: o per un aumento di attività da parte del ventricolo sinistro, o per un più facile passaggio del sangue dal sistema venoso al sistema arterioso, attraverso al piccolo circolo, o per una costrizione dei vasi cerebrali. Una quarta causa, alla quale taluno potrebbe attribuire l'aumento di pressione dei miei esperimenti, cioè la non avvenuta chiusura di alcuni ramoscelli arteriosi, che si staccano ancora entro la cavità toracica, non credo neppure di prenderla in considerazione, poichè se questi ramoscelli modificano i risultati dell'esperimento, non possono modificarli che abbassando la pressione, non certamente aumentandola: di fatti trattasi di arterie cutaneo-muscolari, le quali durante l'asfissia, come è noto, si dilatano.

Quanto alla prima causa, cioè un'aumentata attività del ventricolo sinistro, la si potrebbe escludere *a priori*, sapendosi che l'irritazione dispnoica del vago tende piuttosto ad aumentare il volume del cuore, rinforzandone l'attività diastolica (Stefani) (1). Di più, io la esclusi mediante al-

(1) Stefani, « Intorno alle variazioni del volume del cuore e alla aspirazione diastolica » (*Accad. di Ferrara*, 1878).
— « Intorno al modo con cui il vago agisce sul cuore » (*Rivista clica*, 1882).
— « Cardiovolume, pressione pericardica e attività della diastole » *ccad. di Ferrara*, 1891).

cuni esperimenti, nei quali praticai l'asfissia, dopo aver reciso ad ambedue i lati il vago nella regione cervicale. *Recisi cioè i vaghi, e legate come al solito tutte le arterie minori e l'aorta toracica, si verifica l'aumento di pressione nella stessa forma e colla stessa intensità, come a vaghi intatti.* Ciò appare evidentemente dai tracciati riportati alla fig. 2.

La seconda causa, cioè una dilatazione dei vasi polmonali, è più difficile ad escludere. Però devo notare anzitutto ch'essa esiste sempre in tutte queste specie di ricerche, e quindi, come non è invocata a spiegare l'aumento della pressione arteriosa quando sono pervie tutte le arterie, così non dovrebbesi giustamente invocare a spiegarlo, quando sono pervie soltanto le arterie cerebrali.

Oltre a ciò, quantunque le mie ricerche (1) tendano a provare che realmente durante l'asfissia ha luogo una leggera dilatazione dei vasi polmonali, contrariamente all'opinione di Knoll (2), pure devesi riconoscere che, se per tale dilatazione ha luogo un aumento della pressione nella grande circolazione, esso non può esser molto rilevante, dal momento che il fatto opposto, la chiusura di alcuni rami dell'arteria polmonale, e perfino la chiusura di tre quarti dei medesimi, non riesce ad abbassare minimamente la pressione arteriosa generale (Lichtheim).

Non resta per conseguenza possibile ammettere altro che la terza causa, vale a dire una costrizione attiva delle arterie cerebrali. Ed in base ai numerosi esperimenti fatti da me, ed ai risultati costanti ottenuti, credo di poter affermare che *per azione della dispnea i vasi cerebrali si restringono come tutti gli altri vasi viscerali.* Questa conclusione si può accordare facilmente con quella sopraricordata di Falkenheim e Naunyn. Le nozioni anatomiche poi sui vasi cerebrali spiegano assai bene la possibilità, che i vasi cerebrali abbiano a

---

(1) A. Cavazzani, « L'innervazione vasomotrice dei polmoni » (*Rivista veneta di scienze mediche*, 1891).

(2) Knoll, « Ueber Wechselbeziehungen zwischen dem grossen u. kleinem Kreislaufe » (*Sitzungsb. der k. Akad. d. Wiss. in Wien.* 1890).

cedere alla costrizione degli altri territorî vascolari dotati di tonache muscolari più robuste, e debbano perciò in via secondaria dilatarsi passivamente. Così si spiegano pure i risultati contradditorî di tutti gli altri sperimentatori. Inoltre, considerando l'azione dilatatrice, che il sangue dispnoico spiega sulle pareti dei vasi cerebrali, è permesso ritenere, che anche in questo caso esista un antagonismo fra l'azione locale e l'azione centrale del sangue asfittico, nello stesso modo come da me fu dimostrato avvenire per l'urea (1), e che quest'antagonismo concorra ad assicurare una maggiore irrigazione sanguigna nel momento dell'asfissia, a quell'organo che ha più bisogno di ossigeno, cioè al cervello.

Dallo studio dei singoli tracciati si potrebbero trarre altri corollarî, non privi di ogni interesse; così riguardo alla durata della costrizione dei vasi cerebrali, la quale sembra eguale alla durata dell'aumento di pressione generale che si osserva ad aorta aperta; così riguardo all'intensità dell'aumento di pressione, che è minore di quello che può verificarsi ad aorta pervia; così riguardo alla prontezza, colla quale compare l'effetto della costrizione dei vasi cerebrali, che è un po' maggiore che non nelle esperienze ad aorta pervia, e che nei tracciati presi dal circolo di Willis, è pure alquanto maggiore che nei tracciati presi dal moncone centrale della carotide. Così sarebbe anche da far rilevare quel leggero e fugace abbassamento della pressione generale, che sussegue immediatamente alla chiusura dell'aorta, precedendo l'aumento di pressione provocato dalla chiusura stessa. Su questi fatti però non credo per ora di soffermarmi, in primo luogo perchè non li potei verificare costantemente, e secondariamente perchè la loro interpretazione condurrebbe più nel campo delle speculazioni, che non in quello dei fatti.

Invece preferisco richiamare l'attenzione sopra un altro portantissimo quesito. Abbiamo visto che il taglio bilaterale

---

(1) A. Cavazzani, « Azione dell'urea sulle pareti dei vasi e sui centri somotori » (*Arch. per le Scienze Mediche*, vol. XV, n. 21).

del vago-simpatico alla regione cervicale nel cane non impedisce l'aumento di pressione dispnoico, dipendente dal sistema vasale encefalico, isolato da tutte le altre distribuzioni arteriose. Questo fatto mi valse a provare, che tale aumento di pressione è indipendente dall'attività cardiaca (almeno per quanto insegna al presente la fisiologia sull'innervazione cardiaca): esso dimostra poi che nel vago non decorrono quelle fibre vasomotrici, per opera delle quali si effettua la costrizione dispnoica delle arterie cerebrali.



FIG. 3.

Da questo fatto fui indotto a ricercare se il taglio del simpatico sia anch'esso senza alcuna influenza sulla maniera con cui i vasi cerebrali reagiscono alla dispnea, essendo permesso il dubbio, che il vago-simpatico cervicale del cane non rappresenti integralmente il cordone del simpatico. Diventava tanto più interessante questa ricerca, inquantochè i lavori di Hürthle (1), ed i lavori più recenti del dott. E. Cavazzani, usciti da questo stesso laboratorio (2), dimostrano nel modo più sicuro, che nel simpatico cervicale del coniglio, come nel vago-simpatico del cane, esistono tanto fibre costrittrici, quanto fibre dilatatrici per i vasi cerebrali.

Per differenziare l'azione del simpatico da quella del vago dovei ricorrere ai conigli. Anche in questi ho usato il curaro e la respirazione artificiale, ed ho ricercato come si comportasse la pressione arteriosa durante l'asfissia, a simpatici integri ed a simpatici recisi, dopo aver legate le arterie ascellari e chiusa l'aorta. Nei conigli non mi fu possibile legare la carotide esterna, essendovi il pericolo

(1) Hürthle, l. c.

(2) E. Cavazzani, « Sulla genesi del circolo collaterale; suoi rapporti coll'influenza nervosa, particolarmente nel circolo del Willis » (*Riv. veneta di Scienze mediche*, 1891).

— Contributo allo studio della circolazione cerebrale » (*Rivista sperimentale di Freniatria e Med. legale*, 1892).

di ledere, durante la ricerca, i filamenti del simpatico che circondano la carotide: però ripeto qui l'osservazione fatta più in alto, che, avendo la carotide esterna una distribuzione principalmente cutaneo-muscolare, essa non può che rendere meno sentito l'innalzamento dispnoico della pressione generale, perchè durante la dispnea i vasi cutaneo-muscolari si dilatano. L'averne omesso la legatura non può, per conseguenza, esser riguardato come una causa d'errore. Noto infine che per applicare il laccio intorno all'aorta toracica nei conigli, fu necessario di aprire due spazi intercostali, resecando la costa intermedia.

Il risultato ottenuto costantemente anche in questi esperimenti fu un aumento della pressione arteriosa, tanto se i filamenti del simpatico erano illesi, quanto se erano recisi ad ambedue i lati (fig. 3). Ciò dimostra che neppure nel simpatico cervicale del coniglio decorrono le fibre vasomotrici, che fanno costringere le arterie cerebrali durante la dispnea, e che, per necessaria conseguenza, devesi ammettere che i vasi del cervello ricevano un'innervazione per qualche altra via, oltre che per quella del vago e del simpatico.

Prima di finire, non posso far a meno di ripetere qui al prof. A. Stefani i sensi della mia gratitudine, per i consigli e gli aiuti da lui continuamente prodigatimi, e di ringraziare il mio amico dott. G. Rebustello della sua intelligente ed assidua assistenza.

Padova, nel febbraio del 1892.

Spiegazione delle Figure.

FIG. 1 (**ridotta ad $^1/_3$ con fotografia**). — Cane curarizzato, respirazione artificiale, pressione carotidea. 1° in *a* si sospende il respiro; 2° in *a* si chiude l'aorta, in *b* si sospende il respiro.

FIG. 2 (**ridotta ad $^1/_3$ con fotografia**). — Cane curarizzato, respirazione artificiale, pressione del circolo del Willis. 1° a vaghi intatti; 2° dopo la recisione dei vaghi: in *a* si chiude l'aorta, in *b* si sospende il respiro.

FIG. 3 (**ridotta ad $^1/_4$ con fotografia**). — Coniglio curarizzato, respirazione artificiale, pressione carotidea. 1° a simpatici intatti; 2° dopo la recisione dei simpatici; in *a* chiusura dell'aorta, in *b* sospensione del respiro, in *c* ripresa del respiro, in *d* riapertura dell'aorta.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 13.

Laboratorio Patologico del Manicomio di Collegno.

DI UN NUOVO

METODO PER COLTIVARE I BACILLI DEL TUBERCOLO

PER

B. MORPURGO e **V. TIRELLI**

Libero docente di Patologia generale. Assistente al R. Manicomio di Collegno.

Nei lavori recenti, intesi a chiarire le cause dell'immunità naturale, erano stati più volte tentati metodi per introdurre in animali viventi dei microrganismi isolati dai tessuti del loro ospite e difesi dall'invasione dei leucociti; ed in certi casi (1) si era osservato uno sviluppo più o meno rigoglioso dei microrganismi introdotti.

In queste esperienze l'organismo ospite aveva funzionato, per quanto riguarda le condizioni di temperatura, di umidità e di ricambio di liquidi e dei gaz, come un opportuno ambiente di coltura.

Questi resultati e questa considerazione ci spinsero ad utilizzare l'organismo di animali recettivi a certe malattie come ambiente per la coltivazione dei microbi riconosciuti quali causa della malattia stessa.

Il presente lavoro si riferisce alla coltivazione dei bacilli el tubercolo in seno all'organismo del coniglio.

(1) Metschnikoff, « Ueber Verhalten der Milzbrandbakterien im rganismus » (*Virch. Arch.*, vol. 114, pag. 465).

È noto, dalle esperienze fondamentali di Kock, che per lo sviluppo delle colonie dei bacilli del tubercolo è indispensabile una assoluta assenza di spostamenti dei bacilli, sia che essi vengano procurati da movimenti attivi di cellule o da correnti di liquidi.

Per ottemperare a queste condizioni era necessario di isolare i bacilli dai tessuti circostanti in modo più sicuro che non si fosse fatto finora. Lo scopo nostro fu raggiunto mediante la costruzione di tubicini di celloidina.

Mentre appunto eravamo intenti in questo lavoro preparatorio, fu pubblicato dal Dott. Sanarelli (1) un metodo per raccogliere linfa priva di leucociti dal sacco linfatico dorsale delle rane. Quest'Autore preparava dei tubicini di pirossilina ricoperti da collodion e li chiudeva torcendoli all'estremità aperta e rivestendo questa pure con collodion.

Noi abbiamo utilizzato la soluzione alcoolica eterea di celloidina che si adopera a scopo istologico, e, per formare dei tubicini, immergevamo delle bacchette di vetro perfettamente pulite e bagnate con alcool assoluto nella detta soluzione, ed estrattele da questa, le facevamo girare intorno a sè stesse finchè la celloidina fosse distribuita uniformemente sul vetro. Durante questa manovra evaporava gran parte del mestruo della celloidina, sicchè essa diventava tenace e non scorreva ulteriormente sul bastoncino, che poteva quindi essere immerso in alcool diluito, dove rimaneva finchè la celloidina in tutto il suo spessore fosse rappresa.

A questo punto estraevamo i bastoncini di vetro dall'involucro di celloidina, con prudenti manovre di rotazione o, ancor meglio, immergendo i bastoncini in acqua bollente.

Di codesti tubi ne preparavamo di più stretti e di più larghi, cercando che gli ultimi fossero tali da capire esattamente l'estremità aperta dei primi e ne servissero da coperchio.

Le coppie di tubicini, piene d'acqua recentemente deaerat

---

(1) Sanarelli, « Le cause dell'immunità naturale contro il carbochio » (*Rivista d'igiene e sanità pubblica*, Anno II, N. 3, 1° febb. 189

venivano bollite a lungo in un matraccio sterilizzato, per metà pieno d'acqua pure sterilizzata e tappato con cotone sterile.

Così abbiamo ottenute delle piccole camere di celloidina sterilizzate, trasparenti, sufficientemente elastiche e resistenti.

Al momento di adoperarle si estraevano dal matraccio e si deponevano in una capsula di Petri di recente sterilizzata, e, tolto il coperchio, si vuotava la camera di celloidina dall'acqua con pipetta di vetro sterilizzata e si introduceva nel tubicino più stretto il materiale da coltivarsi.

Ricoperto quindi il tubicino col suo cappello, vuotato esso pure dell'acqua, si asciugava esternamente la camera con carta bibula sterilizzata e si operava la saldatura del tubo col cappello mediante una goccia di celloidina.

Quando la saldatura era consolidata s'introducevano le camere col loro contenuto sotto la pelle del dorso o nel sacco peritoneale di conigli. Tanto nell'uno quanto nell'altro sito le camerette si riempivano ben presto di liquido trasparente come acqua, ricco di albumina e di cloruri, assolutamente scevro di elementi cellulari.

Il Dott. Sanarelli col suo metodo asserisce di avere ottenuto pure una linfa priva di leucociti e noi, che riconosciamo la stretta affinità di quel metodo col nostro, crediamo di potere indirettamente confermare il resultato ottenuto dall'Autore.

Abbiamo utilizzato per la coltura i bacilli contenuti nelle ghiandole linfatiche caseose ed in quelle non ancora caseificate, nei tubercoli grigi del polmone, del fegato, della milza, del mesenterio, dell'iride e della coroide di cavie e conigli resi tubercolotici con l'iniezione intraperitoneale di sputo di tisici. Di tutti questi organi abbiamo alcune volte schiacciato delle piccole porzioni fra due vetri piani sterilizzati e deposti i frammenti che ne risultavano nei tubicini, ed altre volte ·biamo esciso dall'organo tubercoloso dei pezzettini che ab- mo senz'altro chiusi nelle camere di celloidina.

straendo, dopo venti o più giorni, dall'organismo del co- lio le camerette così preparate, si vede che esse sono total- ıte piene di liquido limpido all'infuori di una delle sue

estremità, la quale, se non è per avventura occupata dal pezzo tubercolotico introdotto, contiene uno scarso deposito bianco. Incidendo con cautela questa estremità del tubicino, si può raccogliere su una piastra coprioggetti quel deposito che, stemperato in una goccia di liquido del tubo, si mostra composto da numerosi punticini bianchi di grandezza varia. Quando invece l'estremità del tubo è occupata dal pezzo inoculato, non si scorge alcun deposito isolato, ma, portando il pezzo stesso con una goccia di liquido sul coprioggetti e scuotendolo in essa, si vede che dalla sua superficie si staccano dei piccoli frammenti bianchi.

Quel deposito o questi frammenti, fissati alla piastrina mediante il calore, dopo l'evaporazione del liquido, e colorati col metodo di Koch-Ehrlich per i bacilli del tubercolo, si mostrano costituiti da intricati gruppi ad *S* di bacilli intensamente tinti in violetto.

Estraendo i tubicini dopo un soggiorno più breve nell'organismo del coniglio, non si vede deposito al fondo, nè si riesce a far cadere dalla superficie del pezzo dei frammenti bianchi; però, spappolando il tessuto tubercolotico in una goccia di liquido, si riesce, già dopo tredici giorni, a dimostrare numerosi piccoli gruppi di bacilli a forma di *S*.

Trasportando dai tubicini, con la punta di un ago di platino, delle piccole porzioni del deposito bianco o dei frammenti staccati dalla superficie del pezzo inoculato su siero sanguigno rappreso in provette a becco di clarinetto, si può constatare su questo lo sviluppo lento di colonie asciutte, simili a crostine, costituite esclusivamente da elementi che hanno tutti i caratteri microscopici dei bacilli del tubercolo.

Inoculando inoltre quel materiale dei tubicini nella camera anteriore dell'occhio di conigli, abbiamo veduto ben presto succedere la formazione di noduli grigi sull'iride e via via svo gersi le diverse fasi della tubercolosi oculare, che abbiam potuto anche dimostrare su preparati istologici degli occl infetti.

Dall'osservazione microscopica diretta del contenuto dei tu

bicini, dal trasporto del medesimo sul siero sanguigno rappreso, dalle inoculazioni fatte con lo stesso nell'occhio di conigli, risulta sicuramente dimostrato che il deposito raccolto al fondo delle camere di celloidina e sulla superficie del tessuto tubercolotico in esse innestato è costituito esclusivamente da bacilli del tubercolo vivi e virulenti.

I tubicini possono essere lasciati nell'organismo del coniglio anche per un tempo relativamente lungo. Essi si rivestono di una sottile capsula connettiva fortemente vascolarizzata, con la quale non contraggono nessun intimo rapporto, e non provocano di regola reazione infiammatoria ulteriore. In queste condizioni noi abbiamo osservati dei tubi che si trovavano nel cavo peritoneale da oltre due mesi.

Nel tessuto sottocutaneo avviene, relativamente spesso, che intorno ai tubicini dopo un certo tempo si produca una raccolta purulenta, la quale danneggia la parete di celloidina corrodendola e rendendola fragile, così da facilitare l'apertura delle camerette e la successiva penetrazione del pus dentro alle medesime.

Le nostre prove furono ripetute in 91 tubicini, dei quali 60 diedero un resultato positivo. Dei 31 nei quali non abbiamo trovate colonie di bacilli del tubercolo, 16 erano aperti ed invasi in tutta la loro estensione da leucociti, 12 erano chiusi e sterili e 3 erano inquinati da altri microrganismi. Dei 12 tubi rimasti sterili 8 erano stati inoculati con materiale non sicuramente tubercolare, e nei pezzi inoculati in questi non abbiamo rinvenuto nessun bacillo del tubercolo.

Dei quattro tubi che credevamo innestati con materiale sicuramente tubercolare e che erano rimasti perfettamente chiusi e sterili, in tre non abbiamo trovato nessun bacillo del tubercolo ed in uno abbiamo veduto bacilli in discreta copia e ben tingibili, ma, come ebbe a dimostrarci il loro trasporto nella camera anteriore dell'occhio di conigli, incapaci di produrre la tubercolosi e quindi probabilmente morti.

Anche alcuni dei tubi nei quali abbiamo trovate molte e ben sviluppate colonie, al momento della loro estrazione dal

connettivo sottocutaneo del coniglio, erano più o meno ampiamente aperti e contenevano in vicinanza dell'apertura uno zaffo di pus. In questi casi la soluzione di continuità della celloidina deve però essere stata di data recente perchè la massima parte del tubo conteneva liquido limpido, ed in questo appunto si trovavano il frammento inoculato e le colonie.

Se pure la presenza di gruppi dei bacilli del tubercolo affatto simili alle colonie dei medesimi basta a far ritenere per certo che dentro alle camere di celloidina era avvenuta una moltiplicazione dei germi introdotti, noi abbiamo creduto di dover escludere ogni dubbio che i bacilli trovati nei tubicini dopo l'incubazione nell'organismo del coniglio fossero soltanto quelli che avevamo introdotti col tessuto tubercolotico. A tal fine abbiamo paragonato il numero dei bacilli nel succo del pezzo tubercolotico fresco con quello dei medesimi dopo la loro coltura, e trovato che questo era sempre di gran lunga maggiore di quello, e che in alcuni casi, mentre prima della coltura riusciva difficile, od anche infruttuosa la ricerca dei bacilli, dopo di essa trovavamo innumerevoli bacilli e ben formati gruppi ad *S*.

Se non che, poteva essere obbiettato che, dopo la macerazione del tessuto tubercolotico entro le camere di celloidina, i bacilli si erano liberati da quello, e, cadendo in uno spazio ristretto, erano comparsi numerosi nei preparati e per caso raccolti in gruppi a forma di *S*.

Per rispondere a questa obbiezione noi abbiamo cercato di dimostrare che la disgregazione del tessuto da sola non bastava a rendere liberi tanti bacilli quanti se ne trovano nei tubicini dopo la loro incubazione nell'organismo del coniglio.

Per fornire questa prova abbiamo deposto in pari tempo dei pezzi di ghiandole linfatiche caseose (facilmente disgregabili), approssimativamente della stessa grandezza, in due serie di tubicini, ed una di queste abbiamo introdotta nell'organismo di un coniglio, e l'altra conservata in provette sterilizzate ripiene d'acqua distillata e sterilizzata e ben chiuse con cotone e cappelli di gomma. Dopo uno e rispettivamente due

mesi, abbiamo fatto dei preparati del contenuto dei tubicini delle due serie e trovato che, nei tubi estratti dal coniglio, fra i detriti cellulari esistevano innumerevoli bacilli e bellissimi loro gruppi ad *S* intricati, mentre in quelli conservati in acqua non vi erano che rari bacilli isolati e difficilmente colorabili. Il confronto dunque di queste due serie di preparati ci pare basti ad escludere che la macerazione del tessuto tubercolotico, e la conseguente caduta dei bacilli in uno spazio ristretto, abbia potuto simulare quell'assembramento e quell'aggruppamento di bacilli che abbiamo rinvenuto nei tubi conservati dentro l'organismo dei conigli.

Sui pezzi di organi tubercolotici introdotti, senza prima schiacciarli, nelle camere di celloidina e conservati per un certo tempo nel cavo peritoneale di conigli abbiamo seguito il modo come si sviluppano le colonie. Abbiamo cioè fissati con alcool assoluto quei pezzi e, dopo l'impregnazione in paraffina, li abbiamo ridotti in sottili sezioni microscopiche asseriate, che, attaccate ai coprioggetti, abbiamo colorate col violetto di genziana e vesuvina, come si suol fare per dimostrare bacilli del tubercolo nei tessuti.

In queste sezioni si vedono i bacilli in gruppi assai numerosi e raccolti a focolai. Là dove gli interstizii del tessuto sono più ampii (p. e. negli alveoli del polmone) si osservano le colonie con le loro forme caratteristiche. In ogni caso queste si vedono alla superficie del pezzo.

Questi preparati indicano che la moltiplicazione dei microrganismi nel tubicino è incominciata senza il previo disfacimento del tessuto che li conteneva, ma in seno al tessuto stesso e che lo spostamento dei bacilli e la loro caduta nel liquido del tubicino è seguita alla moltiplicazione rigogliosa dei medesimi. Si può quindi asserire che i bacilli trasportati all'organismo tubercolotico nella camera di celloidina sono assati dalla vita parassitaria a quella saprofitica sul tessuto ıbercolare stesso e che le condizioni apprestate dal nostro ıetodo sono atte a far continuare lungamente la loro vegeızione.

Dal complesso di questi esperimenti risulta che, chiudendo in camerette di celloidina del materiale tubercolare puro e mantenendolo per un certo tempo entro l'organismo del coniglio, si può ottenere senz'altro lo sviluppo di colonie di bacilli del tubercolo vivi e virulenti.

È preferibile in ogni caso l'introduzione dei tubicini di celloidina nel cavo peritoneale anzichè nel tessuto sottocutaneo dei conigli, perchè in quello essi possono soggiornare anche assai lungamente.

Quanto all'applicazione pratica del metodo descritto, ci pare che esso possa essere utilizzato non soltanto alla coltivazione dei bacilli del tubercolo a scopo del loro isolamento, ma anche a quello di darne una dimostrazione evidente in tessuti nei quali essi siano in numero così scarso da essere a gran fatica e forse senza frutto ricercati con l'esame microscopico diretto.

La facilità con la quale il nostro metodo permette di ottenere una moltiplicazione rapida di microparassiti difficilmente coltivabili in vitro ci fa credere inoltre, che la base teorica del nostro metodo possa essere applicata a colture di microparassiti, dei quali finora non si è potuto seguire lo sviluppo fuori dei tessuti del loro ospite.

Fig. 1

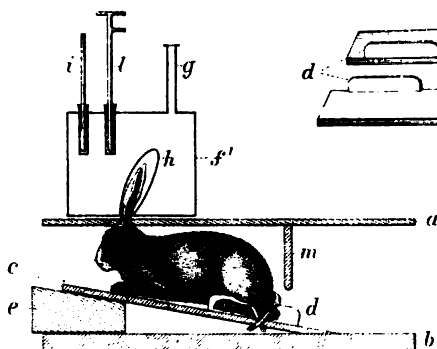


Fig. 2

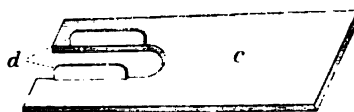


Fig. 3

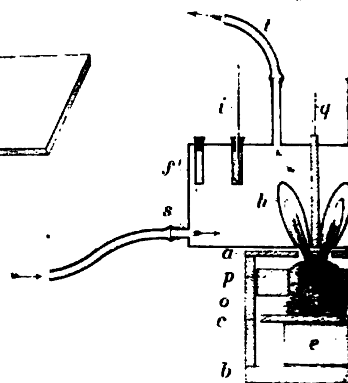


Fig. 5

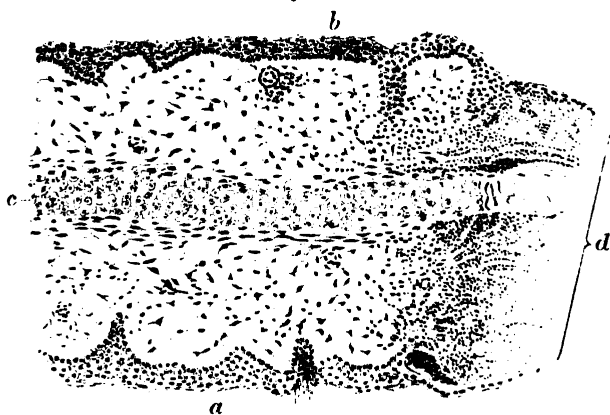


Fig. 6

Fig. 8



Penzo del.

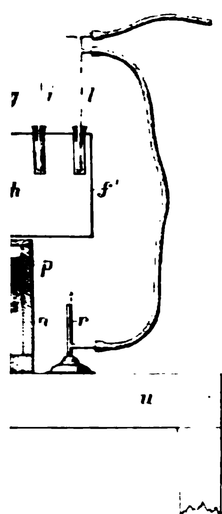


Fig. 4

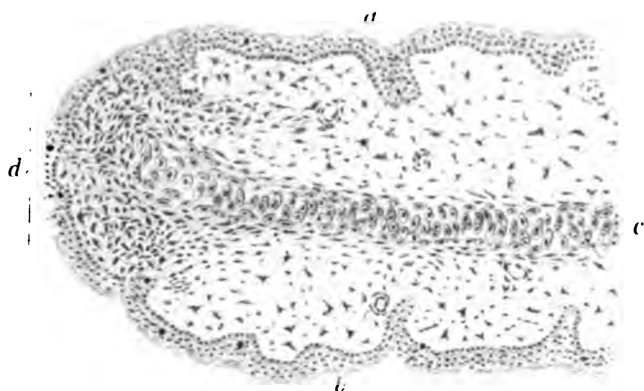




Fig. 9

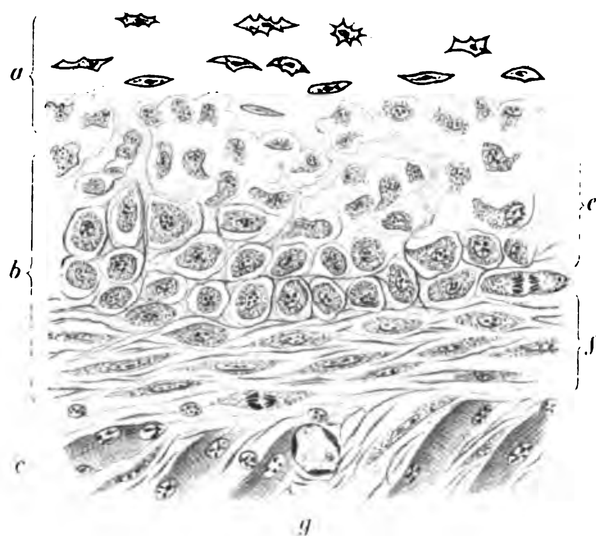


Fig. 7



Lit. Salussolia - Torino.



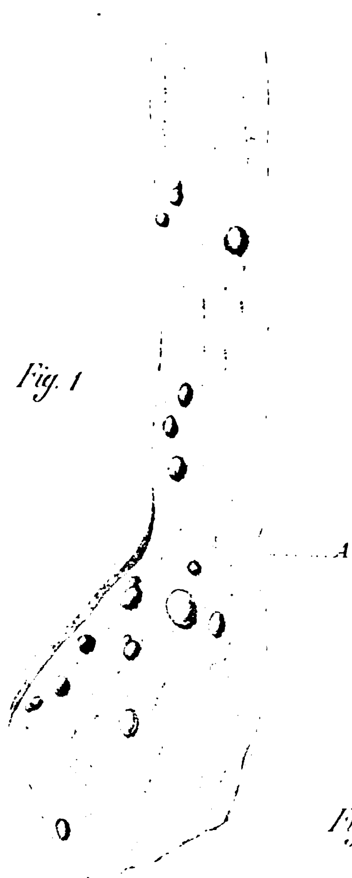


Fig. 1

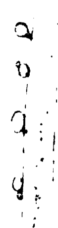


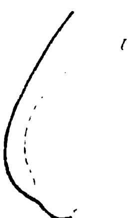
Fig. 2



Fig.

Fig. C

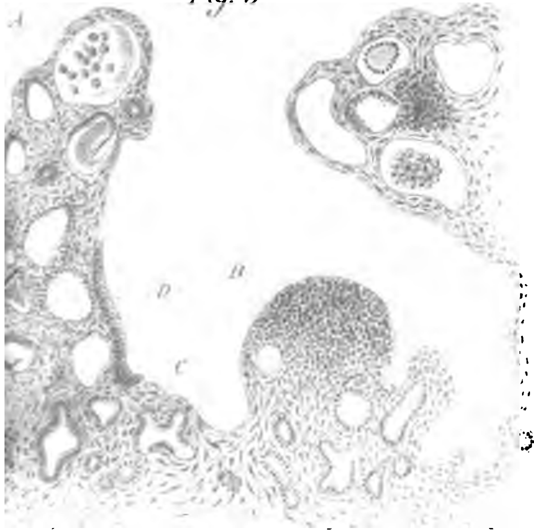






G. Pisenti ad nat. del.

Fig. 3



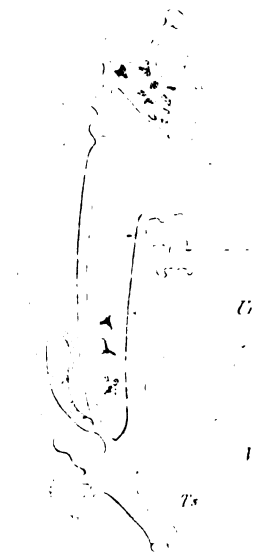


Fig. B



Fig. 5

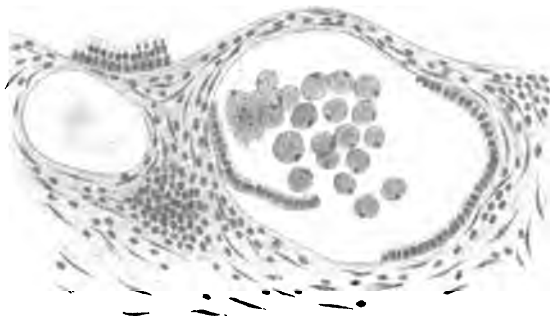


Fig. 6



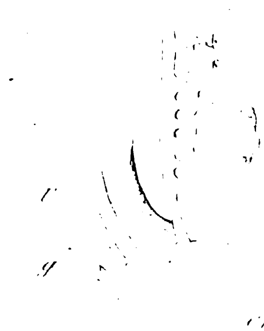


Fig. A

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 14.

CONTRIBUZIONE ALLO STUDIO

DELLO

SVILUPPO DELLE CAPSULE SURRENALI E DEL SIMPATICO

NEL POLLO E NEI MAMMIFERI(*)

PER IL

Dott. **Romeo FUSARI**

Professore di Anatomia umana nell'Università di Ferrara.

(Tav. IV, V, VI, VII)

Non vi ha forse altro organo del corpo animale che sia stato fatto oggetto di tante esperienze ed osservazioni quanto le capsule surrenali, e parimenti non vi ha forse altra parte dell'organismo sulla cui funzione si sia ancora oggidì così incerti. Le esperienze ed i dati clinici ed anatomo-patologici condussero i vari autori a risultati così contraddittorii che da questi non si può neppure dedurre a quale ordine di organi le capsule soprarenali appartengano. Sono le medesime organi puramente ghiandolari, come da alcuni si vuole, oppure si devono ascrivere alla categoria degli organi linfoidi, come altri ha sostenuto, o altrimenti si devono considerare come organi appartenenti al sistema nervoso, come una terza serie di osservatori avrebbe dimostrato?

I criterii tratti dagli esperimenti e dalle osservazioni anatomo-patologiche furono finora insufficienti ad illuminarci su

(1) Questa memoria fu presentata al R. Istituto Lombardo il 25 aprile 1891; nel 7 gennaio di quest'anno venne assegnato alla medesima il premio Fossati.

tale questione, ma se d'altro canto consideriamo i dati anatomici, istologici ed embriologici, ci troviamo pure in gravi imbarazzi. L'anatomia e l'istologia ci diedero, è vero, numerose ed accurate descrizioni sulla struttura degli organi surrenali, ma ciò non di meno quanto da quelle si potè concludere sulla loro possibile funzione non sono che vaghe congetture. E nemmeno a notevoli risultati sono riuscite le varie osservazioni embriologiche fatte fino ad ora, perchè su questo riguardo puossi dire che quanti furono gli studi intrapresi, quasi altrettante riuscirono le conclusioni e le teorie che se ne trassero.

Essendomi io pure proposto il còmpito di studiare la natura degli organi surrenali, ho creduto bene di non ritentare dal mio canto la via dell'esperimento. Se per questa via a malgrado dei numerosissimi tentativi fatti da pazienti ed esercitati osservatori finora non si è riusciti allo scopo, è molto verosimile supporre che l'organo, che si è cercato di studiare, non abbia funzione a lui speciale; sicchè, levato detto organo, la funzione per questo non sia venuta a mancare, perchè altri organi similmente funzionanti sono intervenuti in azione ed hanno prodotto un sufficiente compenso. Io mi sono invece tenuto al metodo embriologico. Nella vita embrionale noi troviamo gli organi ritornati nelle loro condizioni più semplici, primitive, ed inoltre per le capsule surrenali vi è anche il fatto che esse offronsi relativamente meglio sviluppate nella vita fetale che nell'adulto. Mi sono dunque proposto di studiare con ogni diligenza e coi migliori metodi di indagine i varî periodi di sviluppo di tali organi e di determinare da quali organi primordiali essi si formino, perchè mi è sembrato che fosse questo un dato molto importante per poter dare un giudizio sulla loro natura fisiologica.

Come appare già dal titolo del presente lavoro, io ho dovuto occuparmi anche dello sviluppo del simpatico, avendo rilevato, mi giova dirlo fin d'ora, che il sistema nervoso della vita vegetativa entra per una parte cospicua nella formazione degli organi surrenali.

NOTE DI STORIA.

Eustachio, cui dobbiamo la scoperta dei corpi surrenali, chiamò questi organi *glandulae renibus incumbentes*. Casserio successivamente impose loro il nome di *reni succenturiati*, perchè, secondo interpretò Bucrezio, corrisponderebbero per la sostanza loro e spesso anche per la forma ai reni, e così sembrerebbero piccoli reni situati presso ai grandi reni. Bartolini (1) in vista della speciale funzione che ai medesimi ha attribuito, li chiamò *capsulae atrabiliariae*, Wharton per la loro posizione preferì chiamarle *glandulae ad plexum*, Winslow le denominò *glandulae suprarenales*, e Morgagni (2) propose la designazione di *majores glandulae ad renes*. Oggidì si chiamano indifferentemente *capsule*, *corpi* o *ghiandole surrenali*.

Circa alla funzione di questi organi gli antichi divagano in congetture. Secondo Spigelio essi non servirebbero che ad un ufficio meccanico come cuscinetti adiposi; per Riolano nell'adulto le capsule surrenali non avrebbero uso alcuno, *post partum tamquam vietas et marcidas flascescere instar vasorum umbilicalium;* il loro uso sarebbe da ricercare nel feto dove sono più grandi e dove servirebbero a fabbricare l'adipe renale mediante il loro succo. Bartolini attribuisce alle medesime una funzione che avrebbe una certa analogia con quella del fegato: come quest'organo fabbrica la bile, così le capsule fabbricherebbero l'*atrabile*, umore che sarebbe poi versato fuori dell'organismo passando nell'urina. Questa singolare teoria ebbe origine dall'essersi osservato nell'interno delle capsule surrenali dell'uomo una cavità più o meno estesa contenente un umore nerastro, umore che, come fu fatto rilevare da Meckel, non risulta altro che dalla rapida decomposizione cadaverica della sostanza midollare. Va qui notata anche l'opinione di un anonimo le cui carte furono trovate da Morgagni fra gli scritti di Valsava, la quale opinione si accosta ad una teoria moderna sulle stesse capsule. Per l'a-

nonimo questi organi sarebbero addetti alla generazione, non produrrebbero alcun seme, ma servirebbero di irritamento e stimolo venereo comune al maschio ed alla femmina, per cui questi sono eccitati a propagare la specie (*succenturiatos renes precipuam esse delectationis venereae et concupiscentiae officinam*). Morgagni trovò insostenibili queste vedute, mentre Haller (3) difese specialmente l'ipotesi che le capsule siano ghiandole appartenenti all'apparato uropoietico e genitale.

Al principio di questo secolo Meckel (4) non vide che vi potesse essere alcun rapporto fra capsule surrenali e reni, sostenne invece la teoria del loro rapporto colle ghiandole sessuali, adducendo in prova alcuni fatti. Egli trovò cioè un notevole ingrossamento delle capsule surrenali, specialmente nelle cavie, in casi in cui era molto sviluppato anche l'apparecchio genitale, e d'altra parte osservò più volte la contemporanea mancanza degli organi della generazione e dei surrenali; notò anche che negli anfibii all'epoca della fregola le ghiandole surrenali erano ingrossate. Nagel (5) successivamente contradisse in tutti i punti le vedute di Meckel portando in suo sostegno altri fatti. Il Nagel negli organi surrenali vide delle ghiandole modificanti la composizione del sangue, senza per altro aver potuto determinare la natura di tale modificazione; questa opinione venne adottata anche da Rathke (6).

Apparve poi per la prima volta la dottrina che ascrive le capsule surrenali agli organi appartenenti al sistema nervoso per opera di Bergmann (7), a cui questi fu portato specialmente per aver considerato il grande numero di nervi che vanno alle dette capsule. Le due sostanze, di cui queste constano, agirebbero come colonne galvaniche, *qui rupta vel minuta vi plexum eos novo vigore impleant, eorum fortitudinem restaurent, ad agendum excitent*. Ma Ecker (8) tornò a dividere le vedute di Nagel. Egli studiando la struttura delle capsule trovò che queste assomigliavano più ad una ghiandola sanguigna che ad un organo nervoso, sicchè le an-

noverò fra le ghiandole vascolari sanguigne. Secondo questo autore la ricchezza in nervi di tali organi non contraddiceva tale veduta, ma faceva piuttosto credere ad una speciale influenza del sistema nervoso sulla secrezione della ghiandola, la quale fornirebbe della *proteina*. Così Frey (9) fra le ghiandole vascolari sanguigne accanto al timo ed alla milza pone le capsule surrenali. Fra i detti organi vi sarebbe una differenza non nella funzione, ma nel periodo della durata di questa. Il timo funzionerebbe solo nel primo stadio della vita, le capsule surrenali nell'adulto avrebbero un'azione molto limitata, mentre l'attività della milza perdurerebbe tutta la vita.

Alla seconda metà del secolo appaiono i lavori di Leydig sui selacidi, ganoidi (10) e rettili (11). Secondo l'Autore le capsule surrenali in questi vertebrati constano di due parti. L'una di queste oltre contenere comuni cellule ganglionari simpatiche è costituita anche da elementi che differiscono dalle cellule ganglionari solo per possedere un color giallo sporco, e però egli li considera come elementi del simpatico modificati; l'altra parte sarebbe composta di elementi simili ma ripieni di gocciole adipose. Questa seconda parte, la quale sta addossata ai vasi sanguigni, sarebbe omologa alla sostanza corticale dei corpi surrenali dei mammiferi, mentre la prima parte sarebbe omologa alla sostanza midollare.

Altri lavori embriologici sull'argomento che ci occupa vengono in luce per opera di Remak (12). Dalle ricerche fatte questi fu condotto pure a ritenere tali organi di natura nervosa, e li denominò *ghiandole nervose* (*Nervendrüsen*). Stando a questo embriologo i corpi surrenali si svilupperebbero dalle estremità cefaliche di due cordoni nervosi, cioè dai nervi genitali da lui scoperti, appartenenti al sistema del simpatico. Nel pollo all'ottavo giorno di incubazione apparirebbero i imi abbozzi sotto forma di un accumulo di cellule gangliari uato in vicinanza dell'estremità cefalica del corpo di Wolff. ocedendo lo sviluppo, molte di queste cellule riempiendosi gocciole adipose si differenzierebbero e costituirebbero la tanza corticale, le altre invece conserverebbero la loro na- a gangliare.

Kölliker (13) ha cercato di conciliare insieme le opinioni così opposte degli autori precedenti. Egli ha attribuito alle capsule due attività: la sostanza midollare rappresenterebbe un apparato appartenente al sistema nervoso, invece la sostanza corticale entrerebbe nella categoria delle ghiandole vascolari sanguigne insieme al timo ed al corpo tiroideo. Luschka (14) tornò per contro a parlare di ghiandole nervose, avendo congiunto in un gruppo l'ipofisi, la ghiandola coccigea e le capsule surrenali. Per questo autore le cellule midollari delle capsule sarebbero provvedute di prolungamenti continuantisi con fibre nervose midollate. Werner (15) al contrario nega loro ogni parentela colle cellule nervose e così Zellweger (16), il quale fondandosi su indagini chimiche, ammise invece un'analogia delle capsule colle ghiandole vascolari sanguigne e specialmente colla milza. Allo stesso risultato era già venuto Vulpian studiando la reazione di questi organi col sesquicloruro di ferro (17). Palladino (18) e Morano (19), consideratane la struttura, paragonano le capsule alle ghiandole linfatiche; Henle (20) inclina ad accostarle all'ipofisi senza però ammettere, come ha fatto Luschka, la connessione degli elementi midollari colle fibre nervose; e Brunn (21) le considera come *ghiandole sanguigne arteriose*, ritenendo infondata la teoria che le medesime siano in parte od in tutto un organo nervoso. È però notevole come quest'ultimo autore ammetta uno sviluppo speciale per le due sostanze che formano la capsula surrenale, attribuendo tuttavia alle medesime un'eguale origine.

Torna poi a galla un'altra volta l'idea della connessione delle capsule surrenali col sistema genitale. È Creighton (22) che appoggia questa veduta basandosi su considerazioni istologiche. Egli da una parte trova analoga la struttura della porzione corticale delle capsule con quella dei follicoli ovarici, quando questi (l'ovo non essendo espulso) passano in atrofia, e dall'altra pone a confronto la sostanza midollare delle surrenali colla zona vascolare ed i cordoni midollari dell'ovaio. Per altro l'autore non si fissa sulla natura del rapporto fra i due organi.

Più interessanti per il nostro argomento sono i lavori di Balfour (23) sullo sviluppo degli elasmobranchi. Egli chiama *corpo interrenale* (*interrenal body*) una formazione impari allungata giacente fra l'aorta e la vena caudale in mezzo alla porzione posteriore dei reni, e chiama *corpi surrenali* (*supra-renal bodies*) una serie di corpicciatoli pari situati alla parte dorsale delle vene cardinali e disposti metamericamente su ognuna delle diramazioni dell'aorta. Questi corpi avrebbero un valore differente da quello del corpo interrenale; l'ultimo si svilupperebbe esclusivamente dal mesoblasto, i primi invece sarebbero originati dai gangli simpatici cui rimangono in connessione per tutta la vita. Nel primo lavoro Balfour era inclinato a considerare solo quelli come omologhi alle capsule surrenali dei vertebrati superiori, ma in seguito (24) modificò tale opinione e fece omologo il corpo interrenale alla porzione corticale, i corpi metamerici alla porzione midollare delle capsule dei mammiferi. Io dovrò trattenermi ancora più avanti su cotesta ipotesi di Balfour.

Braun (25) studiò lo sviluppo delle capsule surrenali nei rettili. Egli vi distinse molto nettamente due sostanze; l'una, situata dorsalmente rispetto all'altra, sarebbe costituita da elementi pigmentati, e conterrebbe molte cellule gangliari; l'altra, strettamente applicata contro la prima sarebbe formata da irregolari cordoni di cellule ricche in granulazioni adipose, in modo che a fresco il nucleo ne rimarrebbe completamente nascosto. La prima sostanza dovrebbe la sua origine ai gangli simpatici, la seconda all'ordinario mesoblasto; questa sarebbe omologa alla sostanza corticale, quella alla sostanza midollare delle surrenali dei mammiferi. Di questa sostanza l'ultima possederebbe anche la reazione caratteristica, i suoi elementi, cioè, diventerebbero bruni per l'azione dei sali cromici.

Kölliker (26) in embrioni di coniglio di 12-13 giorni vide svilupparsi le capsule surrenali in modo indipendente e senza entrare in rapporto colle parti vicine da un blastema collocato avanti l'aorta fra il corpo di Wolff ed il mesenterio. Il tessuto

che quivi si forma ricorderebbe per la sua configurazione a cordoni e la ricchezza di sangue quello del fegato degli embrioni. A 16 giorni nel coniglio stesso trovò che le due capsule ben separate l'una dall'altra all'estremità cefalica si erano incurvate all'estremità caudale per non formare che un solo organo. Più tardi al centro del punto di saldatura trovò un ganglio nervoso, altri gangli si erano formati perifericamente. Secondo l'A. gli elementi delle capsule avrebbero un'origine mesoblastica, ma emette però il dubbio che in alcuni mammiferi l'origine si faccia dallo stesso tessuto embrionale il quale forma quella rete nervosa che poi le unisce.

Venendo all'ultimo decennio troviamo avanti tutto il lavoro di Mitsukuri (27) che è di grande interesse, perchè il medesimo verrebbe a confermare nei mammiferi quanto Braun trovò nei rettili. Nel coniglio egli rinvenne le prime traccie delle capsule al 12°-13° giorno, confermando così i dati di Kölliker; al 14° giorno verificò che alle prime note da lui ritenute mesoblastiche si erano aggiunti altri gruppi cellulari molto simili di forma ai primi, ma provvisti di nuclei un po' più piccoli e di tinta più oscura. Questi accumuli di cellule rappresenterebbero l'abbozzo della sostanza midollare. Situati dapprima posteriormente ed all'interno dell'abbozzo della sostanza corticale, il primo a formarsi, venivano poi da questo involti da ogni parte.

Un anno dopo però Gottschau (28) pure studiando nei mammiferi venne a conclusioni molto diverse. Egli deriva i corpi surrenali da una sola nota mesoblastica proveniente dalla parete di vasi venosi. Le due sostanze delle capsule primitivamente non sarebbero differenziabili, anzi in certi casi lo sarebbero solo dopo la nascita. Per l'A. gli organi in parola sarebbero ghiandole speciali il cui prodotto di secrezione composto di parti liquide e solide (frammenti cellulari) sarebbe versato direttamente nel sistema venoso. Egli avrebbe notato che nelle femmine pregnanti detti organi hanno un volume maggiore che nelle non gravide e nei maschi; però la loro importanza fisiologica sarebbe molto maggiore nella vita fetale che nell'adulto.

Il lavoro di Ianosik (29) quasi contemporaneo al sovracitato conviene con quello in quanto si esclude il simpatico nella formazione delle capsule, ma ne differisce in quanto alla derivazione dell'unica nota. Per Janosik si deve considerare come primo abbozzo delle capsule surrenali quella prominenza verso la cavità peritoneale che sta alla punta dell'angolo rientrante che forma il corpo di Wolff col mesenterio. In embrioni di maiali di 25 mm. sulla detta prominenza le cellule dell'epitelio peritoneale proliferano verso la parte dorsale e mediana, vale a dire verso l'aorta. Sono i bottoni formati da questo processo di proliferazione che costituiscono gli abbozzi delle capsule. Anche quest'autore ammette l'unione sulla linea mediana della porzione caudale delle capsule surrenali, e trova che queste hanno rapporti intimi colle ghiandole genitali. Frammenti della loro sostanza resterebbero liberi e costituirebbero le capsule surrenali accessorie. Nei mammiferi i rapporti degli abbozzi surrenali coll'epitelio peritoneale si conserverebbero per maggior tempo che negli uccelli, per altro l'A. dà per questi gli stessi fatti embriologici fondamentali.

Più incerti appaiono i risultati di Weldon (30) per i rettili e per il pollo. In quest'ultimo animale le note delle capsule apparirebbero al 4° giorno di sviluppo nel connettivo al lato interno del rene primitivo ben divise dagli organi vicini, sicchè l'A. non sa dire nulla di preciso sulla loro derivazione, combatte però l'ipotesi che le dette note possano essere prodotte da proliferazione delle pareti delle vene (Brunn, Gottschau). Nei rettili invece Weldon fra provenire la parte ventrale delle capsule da proliferazione dell'epitelio dei glomeruli malpighiani.

Mihalcovics (31) studiò lo sviluppo dei corpi surrenali nei mammiferi, nei rettili e negli uccelli, e venne a confermare tanzialmente i risultati di Ianosik. Quegli riuscì con gran ia di materiale a dimostrare che l'epitelio rivestente i reni mitivi proliferando dorsalmente non solo produce i cordoni suali (segmentali) ma dà luogo anche alle note delle cap- surrenali. I cordoni cellulari surrenali a seconda della

località o proverrebbero direttamente dall'epitelio peritoneale che sta presso la radice del mesenterio, oppure risulterebbero dalla porzione dorsale dei cordoni sessuali che rimane separata dalla porzione ventrale per mezzo dei vasi venosi. L'A. trovò che il rilievo che si incontra sul corpo di Wolff nel pollo presso alla radice del mesenterio non è una formazione costante, e quindi non attribuisce al medesimo alcuna importanza. Del simpatico l'A. non fa parola, solo, in vista dei suoi reperti, egli considera gli organi surrenali come vere ghiandole di origine epiteliale od archiblastica.

Un ultimo lavoro embriologico sull'argomento è quello di Valenti (32). L'A. senza far menzione delle importanti ricerche di Mihalkovics viene pure egli a confermare i dati di Ianosik. Egli nega la partecipazione del simpatico alla formazione delle note surrenali, e trova che la comparsa dei gangli simpatici è di molto posteriore alla comparsa delle capsule. Ritiene le capsule in rapporto genetico ed in parte anche funzionale cogli organi genitali, e le considera come organi rudimentali (*).

Riservandomi a dopo la esposizione dei miei reperti di dare altre notizie storiche circa le ricerche anatomo-patologiche e fisio-patologiche, mi limiterò ora a chiudere questo capitolo con una rapida rassegna delle pubblicazioni risguardanti lo sviluppo del gran simpatico.

Per Remak (33) il gran simpatico come tutte le altre parti del sistema nervoso periferico è di derivazione mesodermica. Secondo l'A. il *cordone limitrofo* si sviluppa nel pollo al quarto giorno: appaiono allora corti cordoni fibrosi che poi si connettono fra loro. His (34) dà notizie più determinate, facendo derivare i gangli del simpatico dai nuclei delle protovertebre. Al quinto giorno nel pollo sotto ai tronchi nervosi

(*) In un importante studio di R. Semon comparso mentre questo lavoro era già presentato (*Jenaische Zeitschrift*, Bd. XXVI, 1891) si fanno derivare nei vertebrati inferiori i corpi interrenali (*Nebennieren*) dalla trasformazione della porzione ventrale del pronefros (*Vorniere*).

spinali si troverebbero le note dei gangli del simpatico, poi apparirebbero anche i rami comunicanti come fine fibre, i quali si completano all'8° e 9° giorno.

Götte (35) deriva il sistema nervoso simpatico pure dal foglietto medio. I cordoni limitrofi sarebbero dapprima indipendenti dal sistema cerebro-spinale a cui più tardi si riuniscono per mezzo dei rami comunicanti. In questo senso si esprimono Förster e Balfour (36); ma in seguito Balfour (37) avendo rilevato che i gangli intervertebrali si originano dal foglietto esterno assegna questa origine a tutti i gangli nervosi compresi i simpatici, ma senza apportare in appoggio dei fatti positivi. E nemmeno tali fatti appaiono accertati in un'altra monografia dello stesso embriologo (23) sullo sviluppo degli elasmobranchi, in cui riferisce d'aver trovato le prime traccie del simpatico in un accumulo irregolare di cellule che sta dietro la vena cardinale e che si trova in connessione coi nervi spinali. Schenk e Birdsall (38) avrebbero invece trovato nei mammiferi e negli uccelli che i gangli dei cordoni limitrofi del simpatico derivano dai gangli intervertebrali, i quali alla loro volta provengono dal sistema nervoso centrale. Onodi, pure asserendo che il lavoro di Schenk e Birdsall è fatto senza precisione, viene tuttavia ad identiche conclusioni. Egli in una serie di lavori (39, 40, 41) avendo studiato lo sviluppo di questa parte del sistema nervoso nei pesci, nei batraci, nei rettili, negli uccelli e nei mammiferi, riferisce: che i gangli simpatici sono un immediato prodotto del processo di proliferazione cellulare all'estremità ventrale dei gangli intervertebrali, e che dopo che si sono separati da questi ultimi appaiono affatto indipendenti; che i cordoni limitrofi del simpatico sono prodotti secondari e devono la loro formazione allo sviluppo di uno verso l'altro dei gangli simpatici ›arati; che nel pollo la vicinanza che vi ha fino alla con- ›nza dei gangli intervertebrali e simpatici è un contegno di ma secondario il quale ha luogo in una tardiva fase di svi- ›po; infine, che i gruppi cellulari ganglionari che si trovano visceri si sviluppano verosimilmente in modo separato.

Kölliker (26) conferma circa ai gangli spinali le vedute di Schenk e Birdsall, non accetta invece totalmente la loro dottrina circa i gangli del simpatico. Secondo l'A. l'ipotesi che tutti i gangli periferici derivano dai gangli dei nervi della testa e spinali non ha in suo favore che l'osservazione sul ganglio cigliare che si forma dal ganglio di Gasser. Il cordone limitrofo del simpatico nei conigli di 16 giorni nella regione cervicale è continuo, e non vi si può fare distinzione fra nervi comunicanti e gangli.

Wiedersheim nel suo trattato di anatomia comparata (42) considera il simpatico come derivante dal sistema nervoso spinale; ma riferisce che Dorn nei petromizonti trovò il simpatico rappresentato da gangli sparsi in mezzo a tessuto connettivo sull'estremità del dotto renale e del dotto genitale, e che Owsiannikow ha veduto nei muscoli dell'atrio del cuore del *Petromizon fluviatilis* una rete nervosa formata da gruppi di cellule gangliari anastomizzantisi per i loro prolungamenti, la qual rete non aveva alcun rapporto col sistema cerebro-spinale. Perciò Owsiannikow concluderebbe che nel *Petromyzon* il sistema nervoso simpatico sia indipendente ed autonomo. Lo stesso autore considera quelle cellule nervose simpatiche del cuore come embrionali, formate in luogo, alla stessa guisa che si sviluppano in luogo le cellule nervose cutanee nella coda della larva di rana e dell'*axolotl*. Queste cellule entrano poi in anastomosi fra loro e divengono nervi, mentre quelle accennate del cuore restano allo stato embrionale. Forse le cellule nervose simpatiche del cuore negli animali superiori si sviluppano in egual modo e si collegano solo secondariamente col vago. Tale è l'opinione di Owsjannikow; per mia parte dai reperti avuti mi sono convinto che non solo i gangli simpatici periferici, ma anche quelli costituenti i cordoni limitrofi hanno uno sviluppo indipendente da quello d gangli encefalici o spinali.

METODO DI RICERCA.

Le mie indagini sullo sviluppo del simpatico e delle capsule surrenali si estesero tanto su embrioni di pollo che su quelli di alcuni mammiferi. Per il pollo io ho ricercato su una serie non interrotta di embrioni fissati nel liquido di Kleinenberg di sei in sei ore dai primi momenti dello sviluppo fino alla 120ª ora di incubazione (fine del quinto giorno). Riguardo ai mammiferi ho potuto avere un buon numero di embrioni di sorcio e di capra, pochi di vitello, di gatto, di *mus decumanus*, uno di uomo al secondo mese; materiale che mi ha fornito nell'insieme una serie discreta di stadii. La maggior parte dei pezzi venne fissata nel liquido di Kleinenberg, e colorata in toto col borocarminio alcoolico, e dopo il trattamento con alcool acidulato vennero posti per un giorno in alcool a 70° aggiunto di alquanto acido picrico. In questo liquido i pezzi perdono una certa quantità di sostanza colorante, ma in compenso si ottiene un tale differenziamento di tinta fra i vari gruppi cellulari, che i preparati (come lo provano le figure annesse al presente lavoro, che io ho tentato di riprodurre nell'aspetto naturale) riescono non inferiori ai più belli che si ottengono mediante la colorazione col picrocarminio ammoniacale sulle sezioni. I tagli furono sempre collocati in serie, e le osservazioni vennero fatte col microscopio Zeiss, sia con diversi sistemi a secco, sia con obbiettivi ad immersione ad olio.

Credo utile anche accennare che, riferendomi alla posizione degli organi, io considererò in ogni caso come anteriori (*cefaliche*) le parti volte verso l'estremità cefalica, come posteriori (*caudali*) quelle opposte alle prime; e così le dirò inferi (*ventrali*), o superiori (*dorsali*) a seconda che le medesime no rivolte verso la parte ventrale o dorsale del corpo del-brione.

ferirò da prima i risultati delle osservazioni sugli embrioni llo, e poi passerò ai mammiferi.

Lo sviluppo del simpatico e delle capsule surrenali nel pollo.

Contrariamente ai dati di tutti gli embriologi antecedenti io nel pollo ho ravvisato già alla metà del terzo giorno le prime traccie dei cordoni limitrofi del simpatico. A tale epoca dette traccie rimangono limitate nella regione corrispondente alle protovertebre anteriori, e precisamente all'altezza del cuore, o nel punto estremo anteriore delle note dei reni primitivi. Nella indicata località superiormente alle vene cardinali, sui lati e sulla linea della parete dorsale dell'aorta si osserva da ciascuna parte del piano mediano un gruppo di elementi, i quali restano distinti dalle cellule che compongono la protovertebra vicina per essere strettamente aggruppati fra loro. Nel resto hanno la forma e le dimensioni degli altri elementi delle protovertebre, però appaiono un po' più colorati di questi ultimi. Siffatto accumulo di elementi non è nettamente delimitato specialmente dal lato dorsale e dall'esterno, cioè verso le protovertebre, sono invece abbastanza isolati rispetto agli altri lati, essendo da questi circondati da sparsi elementi mesenchimali (V. tav. 1ª, fig. 1ª). Nello stadio antecedente (ore 54) esaminando gli embrioni nella regione designata si vedono le protovertebre estese fino in prossimità dell'aorta, e gli elementi protovertebrali appaiono quasi uniformemente distribuiti. Questa osservazione mi ha perciò portato a credere che l'accumulo di elementi situato ai lati dell'aorta in embrioni di ore 60 di incubazione sia prodotto da un differenziamento degli elementi protovertebrali stessi. Ora quei gruppi cellulari costituiscono appunto le prime note dei cordoni limitrofi del gran simpatico. Non è qui a parlare di una possibile derivazione di tali cellule dai gangli intervertebrali dacchè questi a tale epoca si trovano ancora molto al di sopra del punto di uscita delle radici inferiori di cui si trova qualche vestigio (fig. 1ª, tav. 1ª). I miei reperti adunque mi conducono ad appoggiare contro le vedute di Balfour

e di Onodi l'antica teoria di His, per la quale infatti i gangli del simpatico avrebbero origine dai nuclei delle protovertebre, che corrispondono alle protovertebre vere.

Alla metà del terzo giorno gli abbozzi dei cordoni limitrofi del gran simpatico sono bene distinguibili solamente per sei o sette sezioni consecutive dello spessore di venticinque micromillimetri, poi per divenire più povere di elementi si vanno sempre più a confondere cogli elementi protovertebrali vicini, e già dopo 10-12 sezioni non sono più rilevabili. La figura 1ª della tavola 1ª fu ricavata colla camera lucida dalla 3ª sezione, cominciando a contare dal lato cefalico.

In altri embrioni aventi 66 ore di incubazione si confermano gli stessi fatti. Gli accumuli cellulari costituenti le note del simpatico si sono fatti più estesi e gli elementi hanno acquistato un diametro maggiore delle cellule protovertebrali (fig. 2ª, tav. 1ª). Questi gruppi si seguono per un numero di sezioni maggiore, poi andando verso la parte caudale, esaminando le serie trasversali, succedono alcune sezioni in cui non sono più distinguibili, ma posteriormente a queste appaiono altri gruppi cellulari più piccoli e meno distinti dei primi, occupanti sempre relativamente all'aorta ed alle vene cardinali il posto già indicato per i gruppi anteriori. Anche in questo stadio gli abbozzi dei gangli intervertebrali non hanno raggiunto le radici inferiori.

Alla fine del terzo giorno (fig. 3ª) gli abbozzi del simpatico sono ancora più distinti. A questo periodo di sviluppo si può stabilire con sicurezza che gli elementi che compongono la nota costituiscono un cordone continuo, che, rispetto agli stadi precedenti si trova maggiormente esteso sia verso l'estremità cefalica che verso l'estremità caudale. I cordoni sono anche meglio delimitati, in alcune sezioni sono tondeggianti, in altre triangolari con due angoli dorsali, uno interno, l'altro esterno uno ventrale prolungantesi lateralmente all'aorta. Questi bozzi si possono seguire distintamente per tredici sezioni nsecutive aventi ciascuna lo spessore di 30 micromillimetri, posteriormente appaiono altri abbozzi che sembrano indi-

pendenti dagli anteriori. Gli elementi che costituiscono tali note sono assai ravvicinati fra loro, posseggono grandi nuclei molto colorabili, e presentano un gran numero di regolari e grandi figure cariocinetiche.

In embrioni di ore 78 il cordone cellulare componente la nota del simpatico presentasi rigonfiato in due punti (fig. 4ª), ed appare delimitato da un'area anulare più chiara occupata da scarsi elementi fusiformi mesenchimali. Solo in alcune sezioni la delimitazione manca verso l'angolo dorsale esterno perchè a quest'angolo fanno seguito altri elementi, pure colorati che si dirigono in fuori fino a confondersi col tessuto delle protovertebre (fig. 5ª). Verso la parte caudale i cordoni costituenti le note del simpatico si continuano, però vanno restringendosi; ma quivi si osserva un altro fatto importante che passo a descrivere.

Siamo sempre alla metà anteriore del corpo di Wolff, al davanti dello sbocco dell'arteria onfalo-mesenterica. Alla parte interna del rene primitivo si nota quivi da ciascuna parte un lieve rigonfiamento mammellonare che fa prominenza verso la cavità peritoneale. Cominciando da questo rigonfiamento ed andando verso la linea mediana fino alla radice della plica mesenterica, l'epitelio peritoneale mostrasi ispessito, ed inoltre all'interno del rigonfiamento forma dei piccoli rilievi irregolari verso la cavità peritoneale. Verso il lato opposto, cioè verso il mesenchima che sta fra l'aorta ed i reni primitivi, detto epitelio manda tanti bottoni o gemme che si dirigono dorsalmente. D'altra parte i gruppi cellulari costituenti l'abbozzo dei cordoni limitrofi del simpatico hanno prolungato molto all'ingiù il loro angolo ventrale, sicchè questo si è cambiato in un cordoncino composto di una serie di cellule che si insinuano fra l'aorta e la vena cardinale. Ora i cordoni ventrali del simpatico costituiscono la nota da cui si svilupp‑ ranno i gangli del plesso solare e in pari tempo l'abboz della sostanza midollare delle capsule surrenali, mentre gemme dorsali dell'epitelio peritoneale formano il punto d'o gine e dei cordoni segmentali e della sostanza corticale del capsule medesime.

Nelle sezioni poste più caudalmente a quelle che abbiamo considerate la continuità del cordone cellulare del simpatico non si può più stabilire bene, si trovano al suo posto gruppi cellulari che si seguono per alcune sezioni e poi scompaiono; continua invece la proliferazione dorsale dell'epitelio peritoneale.

Nemmeno alla metà della quarta giornata di incubazione (ore 84) la continuità dei cordoni simpatici si può stabilire dappertutto. Anteriormente essi sono bene sviluppati, ed offrono sempre ad osservare molti elementi in mitosi, e le cellule sono così ravvicinate fra loro che i campi cellulari non rimangono molto distinti.

A questo stadio i gangli intervertebrali hanno raggiunto le radici inferiori, e le branche ventrali dei nervi spinali sono ben distinte. Si può osservare il rapporto che queste ultime tengono colle note del gran simpatico, si trova, cioè, che l'angolo dorsale esterno di tali note si è prolungato fino ad incontrare col suo apice la branca nervosa che spicca per la sua colorazione gialla. Anche questo modo di mettersi in rapporto delle due formazioni nervose parla in favore della primitiva indipendenza loro (fig. 11).

In tal periodo le gemme dorsali dell'epitelio peritoneale e massime le interne si sono avanzate ancora più profondamente nel mesenchima ed hanno acquistato la forma di cordoni più o meno lunghi con decorso più o meno rettilineo. Fra questi cordoni si formano dei vasi ed in essi si trovano gruppi di globuli rossi giovani (eritroblasti). Se si osservano le note del simpatico nelle stesse sezioni si vede che il cordone cellulare partente dal loro angolo ventrale si è molto prolungato in basso fino a perdersi in prossimità dei cordoni epiteliali (fig. 11, tav. II).

Se si osservano poi le sezioni trasversali di questi embrioni rtate al livello a cui l'arteria onfalo-mesenterica si stacca ll'aorta, si scorge che dalle note del simpatico partono ventılmente altri cordoncini cellulari, i quali contornando le pai dell'aorta obliquamente dall'avanti all'indietro riescono

a congiungersi quello di destra con quello di sinistra inferiormente a tale arteria ed al di dietro del tronco onfalo-mesenterico. È questo cordoncino che prendendo più tardi un grande sviluppo dà luogo ad una serie di gangli che fanno parte del plesso solare.

Alla 90ª ora di incubazione le note dei cordoni limitrofi del simpatico sono già conformate a catena, presentano cioè successivamente nodi e strozzamenti, inoltre gli abbozzi dei rami comunicanti si possono seguire con maggior facilità specialmente nelle sezioni anteriori (fig. 12, tav. II). D'altra parte i cordoni formati dall'epitelio peritoneale sui lati ed al di sotto dell'aorta si sono già distinti in due porzioni per mezzo dei vasi venosi che si sono sviluppati fra i medesimi; quelli posti dorsalmente ed un po' all'interno di tali vasi dànno luogo alle note delle capsule surrenali, gli altri posti sotto ai vasi vanno in parte a costituire i cordoni segmentali, altri situati più indietro restano dispersi nel mesenchima e costituiscono come un prolungamento degli abbozzi delle capsule. Del resto la separazione è lungi dall'essere netta, perchè anche i cordoni dorsali qua e là sono ancora in rapporto coll'epitelio peritoneale mediante un prolungamento che circonda dal lato interno o dall'esterno la vena (fig. 12). Ordinariamente tali cordoni sono formati da cellule appaiate a due a due, in modo che rassomigliano ad una ghiandola tubulare il cui lume sia ridotto a zero. Gli elementi che li costituiscono sono più colorabili che gli elementi circostanti del mesenchima e conservano ancora i caratteri dell'epitelio peritoneale da cui derivano. Dal lato del simpatico poi si scorge che i cordoncini derivanti dagli abbozzi dei cordoni limitrofi si sono avanzati ancora di più verso il lato ventrale ed hanno raggiunto i cordoni epiteliali posti dorsalmente alle vene; questi rispetto alla estremità ventrale dei cordoncini simpatici sono situati all'esterno. A questo stadio così noi vediamo che le due formazioni simpatica ed epiteliale costituenti gli abbozzi delle capsule surrenali sono già poste. Brunn li osservò solo al quinto giorno, e Valenti alla 97ª ora di incubazione. Nè l'uno

nè l'altro di questi autori parlano del simpatico nemmeno per le epoche da loro indicate, anzi il Valenti non ha veduto il rapporto delle capsule surrenali col simpatico che all'ottavo giorno.

Alla fine del quarto giorno (ore 96) la catena ganglionare del simpatico è interamente disegnata; essa appare anche meglio delimitata che negli stadi precedenti, perchè attorno alla medesima delle cellule allungate del mesenchima vi formano un sottile involucro. Si sono anche un po' scostate dalla parete dell'aorta essendosi interposti degli elementi connettivali, i quali aumentano col progredire dello sviluppo, da che ne consegue che i cordoni simpatici si allontanano anche di più dall'arteria, mentre in pari tempo si fanno più dorsali. Gli abbozzi dei rami comunicanti, costituiti nello stadio precedente da soli elementi cellulari, lasciano ora vedere qualche fibrilla nervosa nel punto in cui vanno a mettersi in rapporto col nervo spinale.

Nella tav. III sotto il n. 17 ho disegnato a forte ingrandimento un ganglio del cordone limitrofo col suo ramo comunicante a questa epoca di sviluppo. I singoli corpi delle cellule che lo costituiscono non sono bene delimitati e restano anche meno distinti che nello stadio precedente. I nuclei nei cordoni appaiono in prevalenza tondeggianti, nei rami comunicanti sono in maggior numero ovali; le figure mitotiche si trovano specialmente nel ganglio, ed all'estremità del ramo comunicante, laddove questo entra in rapporto col nervo spinale. Talora si trova che una fila di nuclei in cariocinesi partono dalla indicata estremità e costeggiano il nervo dirigendosi dorsalmente. Ciò servirebbe ad indicare che gli elementi simpatici si sviluppano dal cordone limitrofo verso il ganglio intervertebrale e non viceversa come altri ha sostenuto. Esaminando attentamente si trova che attorno a ciascun nucleo vi ha una certa quantità di protoplasma che appare più colorata e che si prolunga in più direzioni insinuandosi in mezzo agli elementi vicini. Da ciò si può dedurre che probabilmente già in tale epoca di sviluppo le cellule simpatiche sono prov-

vedute di prolungamenti, circostanza questa che darebbe anche una spiegazione della molto imperfetta delimitazione degli elementi.

Se si confronta la struttura dei gangli simpatici con quella dei gangli nervosi intervertebrali nel medesimo stadio si resta colpiti per la loro grande differenza. In questi le cellule nervose hanno contorni distintissimi, sono tutte ugualmente grandi e provvedute di grandi nuclei tondeggianti di aspetto vescicolare. Esse stanno disposte in un certo ordine, come a file, separate fra loro da fibre o da altri elementi molto piccoli, gli spongioblasti. Invece, come ho detto, nei gangli del simpatico gli elementi cellulari sono mal limitati; essi sono anche diversamente grandi, irregolarmente distribuiti ed hanno nuclei di diversa forma provveduti di molti punti nucleolari e di un reticolo filamentoso.

A questo stadio si vedono altri abbozzi di gangli simpatici oltre quelli che costituiscono il cordone limitrofo. Così alla parte anteriore del corpo di Wolff si notano due ganglietti, uno per lato dietro a vasi venosi, ganglietti che per mezzo di un sottile cordone cellulare si mettono in relazione col cordone limitrofo; posteriormente a questi, sempre ventralmente all'aorta ed alle vene cardinali, all'interno del corpo di Wolff e pure in rapporto colla parete dorsale di due altre vene vi sono due altri gangli più voluminosi ed anch'essi in connessione coi cordoni limitrofi. Ventralmente e dal lato esterno di questi ultimi gangli si trovano le formazioni epiteliali costituenti l'abbozzo epiteliale delle capsule surrenali. Ancora dippiù verso la estremità caudale si nota il cingolo simpatico che circonda l'aorta già accennato nello stadio precedente; dietro a questo ne succede un altro più sottile; poi ancora più all'indietro alla parete dorsale dell'intestino posteriore appaiono le prime traccie del *grande nervo intestinale* di Remak, dal quale embriologo però fu osservato solo al settimo giorno. A quest'epoca non ho potuto trovare nessun rapporto fra dette traccie ed i cordoni limitrofi che pure si seguono fino al loro livello.

Ianosik e più ancora Valenti hanno dato una grande importanza a quelle rilevatezze che nel terzo medio del corpo di Wolff si trovano costituite dall'epitelio peritoneale fra il rigonfiamento sessuale e la radice del mesenterio, come quelle che sole darebbero origine alle note delle capsule surrenali. Inoltre quelle rilevatezze ripetendosi più volte ricorderebbero una disposizione metamerica, e così rappresenterebbero in certo modo l'ordine metamerico con cui sono disposti gli organi che nei vertebrati inferiori sono omologhi alle capsule surrenali. Le mie ricerche mi hanno invece condotto a togliere a dette rilevatezze gran parte della importanza che loro si è attribuita; ciò in vista di due ordini di fatti:

1° I rilievi in discorso sono molto incostanti nel loro modo di presentarsi; talora sono duplici da un lato e mancano dall'altro; talora sono anche molteplici, l'epitelio appare frastagliato o suddiviso da tante eminenzette coniche; a destra i rilievi sono più frequenti che a sinistra, e da ambo i lati il loro modo di ripetersi è ben lungi dall'essere regolare quale dovrebbe essere in una disposizione metamerica.

2° L'epitelio di tali rilevatezze non concorre che molto parzialmente alla produzione delle note delle capsule surrenali. Su questo punto io ho trovato esatte le osservazioni di Mihalkovics. Non sono sole le rilevatezze indicate, e neppure tutto l'epitelio germinativo che sta prossimo alla radice del mesenterio, ma è anche quella parte dell'epitelio germinativo, che riveste la plica genitale, la quale concorre alla formazione dell'abbozzo epiteliale delle capsule surrenali. Le note di queste capsule si estendono per lungo tratto nel pollo, cominciano avanti alle ghiandole sessuali e terminano un po' prima di queste circa a livello dell'uscita del tronco onfalomesenterico. Ora nella porzione che sta anteriormente al luogo in cui si sviluppano le ghiandole sessuali, l'epitelio peritoneale, proliferando dorsalmente, produce in quasi tutta l'estensione che sta fra il glomerulo e la radice del mesenterio dei cordoni cellulari di cui parte presto scompaiono, parte entrano a costituire le note delle capsule surrenali; all'altezza invece in

cui si sviluppano le ghiandole sessuali, l'epitelio in corrispondenza ai rigonfiamenti genitali prolifera pure e forma dei cordoni, i quali per l'intromissione di vasi venosi sono divisi in due parti: di questi gli inferiori costituiscono i cordoni segmentali, i posteriori o dorsali entrano insieme ai cordoni prossimali a formare le capsule. Anche più caudalmente si formano dall'epitelio peritoneale altri cordoni che poi scompaiono.

Questi fatti in parte furono già rilevati negli stadi anteriori, ma appaiono anche bene alla fine del quarto giorno. Esaminando successivamente le varie sezioni trasversali disposte in serie partendo dalle cefaliche andando alle caudali, giunti in corrispondenza circa della parete superiore del terzo medio del corpo di Wolff, cominciano ad apparire i cordoncini epiteliali dapprima rari, isolati, e poi più frequenti, a gruppi. Alcuni restano ancora in rapporto coll'epitelio peritoneale (fig. 13, tav. II), altri isolati sotto forma di lobuli (fig. 13 *b*). Poi quando appaiono i rigonfiamenti delle ghiandole sessuali, si fanno più numerosi e sono divisi in due parti da grosse vene (spermatiche), la parte dorsale in alcune sezioni appare ancora unita alla ventrale, in altre invece è totalmente isolata (fig. 14, *a*, *b*). Questa parte dorsale costituita da un gruppo di lobuli o cordoncini epiteliali è una porzione dell'abbozzo delle capsule surrenali, l'altra porzione è fornita dal ganglio del simpatico che le sta immediatamente addossato (fig. 14, *Css*) e che manda molti prolungamenti insinuantisi fra i varii lobuli. Alla fine del quarto giorno adunque l'intero abbozzo delle capsule surrenali si è costituito.

A completare la descrizione di tali abbozzi dirò come essi si trovano ripetuti per molte sezioni successive fino a che si è giunti a livello della prima ansa simpatica che abbraccia l'aorta. Nel punto in cui il simpatico fa quest'ansa i cordoni epiteliali l'accompagnano in parte nella stessa direzione, cioè tendono ad avvicinarsi alla linea mediana.

In embrioni di 102 ore la formazione a lobuli della nota epiteliale delle capsule surrenali è ormai completata; il maggior numero di questi si trova specialmente immediatamente avanti

o alla parte superiore del rigonfiamento genitale. I lobuli sono costituiti da un numero variabile di elementi, ed hanno anche varia figura; alcuni sono quasi perfettamente circolari, altri sono ovali, altri allungati e come contorti su sè stessi. Dal lato del mesenchima sembrano limitati da una membrana basale, tanto è spiccato il loro contorno. Il loro reciproco rapporto è variabile, perchè alcune volte sono separati da un setto semplice connettivale, in altri luoghi da vasi, altrove da cordoni cellulari di derivazione simpatica (fig. 15). Tale fatto, già accennato nello stadio precedente è ancora più manifesto in epoche successive, cioè a 108, 114 e 120 ore di incubazione. La figura 16 è tratta da un embrione di 114 ore e da una sezione anteriore al rigonfiamento sessuale. Si osserva quivi che i lobuli si sono accresciuti e che i più ventrali conservano ancora il primitivo rapporto coll'epitelio peritoneale. Gli elementi simpatici sono profondamente penetrati fra i singoli lobuli.

A 120 ore di incubazione la formazione dell'abbozzo delle capsule può dirsi terminato; infatti esso ha allora quasi la stessa struttura che hanno i corpi surrenali adulti. Infatti noi sappiamo che nel pollo e negli uccelli in generale non vi ha la stessa ripartizione delle due sostanze componenti le capsule surrenali quale si osserva nei mammiferi, ma che invece la sostanza corticale sta ordinata a cordoni o ad isole ed è estesa in tutto l'organo e che fra tali cordoni si estende parimenti a tutto l'organo la sostanza midollare. Ora io ho voluto rappresentare nella fig. 21 della tav. IV, il più fedelmente che mi fu possibile, il modo di disporsi dell'abbozzo delle capsule surrenali alla fine della quinta giornata. I lobuli epiteliali (*le*) appaiono più colorati che i cordoni del simpatico e ciò specialmente per la presenza di numerose cellule più piccole delle rimanenti e che sono un po' schiacciate, il cui protoplasma si colora intensamente. Tutti gli elementi del resto si mostrano a contorni distinti, ed alcuni sono in stato di mitosi. Interposti ai lobuli epiteliali troviamo gli elementi di derivazione dal simpatico disposti a cordoni od a

gruppi di varia forma anastomizzati fra di loro. Nei vari gruppi si distinguono bene i soli nuclei tondeggianti o, per lo più, ovali e provveduti di 2, 3 corpuscoli nucleolari. Alcuni di essi sono in cinesi ed allora sono circondati da un alone chiaro. Il limite degli elementi non è determinabile. Come abbiamo detto, i diversi gruppi di elementi si anastomizzano fra loro e così ne risulta una rete nelle cui maglie stanno i lobuli epiteliali. La rete è poi in relazione con un cordone simpatico che sta al lato interno della nota della capsula, il quale deriva a sua volta dal cordone limitrofo.

In fuori degli abbozzi delle capsule trovansi altri lobuli epiteliali sia isolati sia a piccoli gruppi sparsi qua e là attorno agli elementi simpatici; alcuni si trovano spinti dorsalmente fino in vicinanza dei cordoni limitrofi; altri vanno fino alla radice del mesenterio. Una catena di tali lobuli che si può considerare come un prolungamento posteriore delle note delle capsule accompagna l'ansa del simpatico ventrale all'aorta quasi fin presso la linea mediana. In tal modo i lobuli di destra restan molto avvicinati a quelli di sinistra, ma non arrivano a congiungersi. Noi non sappiamo se nello sviluppo ulteriore tale congiungimento si verifica, noi vedremo invece che nei mammiferi e specialmente nel *Mus musculus* le note delle capsule surrenali restano fra loro unite mediante il loro prolungamento caudale.

Mentre gli indicati cambiamenti durante gli ultimi stadi considerati hanno luogo negli abbozzi delle capsule, i cordoni limitrofi del simpatico si sono invece mantenuti nel loro aspetto primitivo. Solo si sono allontanati anche di più dall'aorta, ed i successivi ingrossamenti e strozzamenti che formano la catena gangliare si sono accentuati. I rami comunicanti si sono sviluppati maggiormente e nella loro metà esterna sono oramai formati da fibre nervose, nella metà interna prevale ancora il numero degli elementi cellulari. Molti di tali rami si trovano ora suddivisi in fasci più piccoli che si anastomizzano fra loro; ciò accade specialmente per i rami posteriori che sono piuttosto lunghi (fig. 19, tav. III), gli anteriori al contrario sono brevissimi.

Nel frattempo per ciascun ganglio del cordone limitrofo si è stabilito un ramo ventrale, di cui un gran numero ha dato luogo a sua volta a gangli secondarii. È notevole tal fatto sopratutto nella regione corrispondente al terzo medio ed al terzo posteriore del corpo di Wolff, in cui ventralmente all'aorta già a 120 ore di sviluppo si trova un numero enorme di elementi simpatici. Molti stabiliscono delle anse che abbracciano l'aorta e che nel loro decorso inferiore abbandonano dei rami che penetrano nel mesenterio. Così se ne trova una per ciascuna diramazione dell'aorta, una più considerevole al di dietro delle arterie ombilicali, ed altre infine in corrispondenza all'aorta caudale. Queste ultime sono in rapporto col grande nervo intestinale di Remak.

Il nervo intestinale dal momento della sua comparsa alla fine del quarto giorno si è andato sempre più differenziando dai tessuti circostanti ed in pari tempo si è ingrossato ed allungato. Alla fine del quinto giorno lo si trova esteso dalla cloaca al dotto vitellino-intestinale; avanti che esso segua la curva che fa il tubo intestinale in quest'ultimo punto, visto in sezione trasversale presenta una forma elittica a grande asse trasversale lungo 9 centesimi di millimetro, a piccolo asse dorso-ventrale esteso per 5 centesimi di millimetro. In avanti al punto indicato il nervo si incurva, si divide e si sottrae ben presto alla vista; all'indietro invece si va a mano a mano ingrossando, ed in corrispondenza al luogo in cui l'aorta si biforca presentasi come diviso in due fasci da un setto mediano, e in questo momento raggiunge i 17 centesimi di millim. nel senso trasversale ed i 12 centes. di millim. nel senso dorsoventrale. Cambia in seguito direzione, si allontana alquanto dalla faccia dorsale dell'intestino e si accosta all'aorta caudale e in questo tragitto sembra che i due fasci si incrocino; altro non ho potuto bene accertare questo fatto. In seguito ·ervo intestinale viene a mettersi in rapporto col plesso il gran simpatico forma al di sotto dell'aorta caudale v. IV, fig. 22).

'aspetto del grande nervo intestinale è molto differente da

quello dei cordoni del simpatico e ciò specialmente alla fine del quinto giorno. Col metodo di colorazione da me usato esso spicca sui tessuti vicini perchè resta molto più pallido ed ha una tinta giallastra. Del resto anche nel nervo intestinale i corpi delle cellule non sono distinti, si vedono solo i nuclei, i quali non sono così stretti fra loro come nel simpatico. Esaminato in sezioni longitudinali lascia apparire una grande quantità di fibrille nervose di diversa grossezza che decorrono tortuosamente fra i nuclei (fig. 20, tav. III). Dove il nervo incontra il plesso del simpatico, gli elementi simpatici vanno a porsi in mezzo al medesimo. Sarà certo cosa molto interessante il seguire più a lungo le sorti di questo nervo, che sembra costituisca un sistema primitivamente indipendente, sia dal sistema nervoso cefalo-rachidico, sia dal gran simpatico.

Lo sviluppo delle capsule surrenali e del simpatico nei mammiferi.

Per quanto ripetute siano state le mie ricerche io non ho avuto finora la fortuna di trovare un embrione di mammifero ad un' epoca di sviluppo appena anteriore a quella in cui appaiono le note dei cordoni limitrofi del simpatico. Ho avuto ovuli in segmentazione ed embrioni ai primissimi stadi, ma dopo questi vi è una lacuna, e vengo ad embrioni di *mus musculus* di quattro millimetri nei quali i cordoni limitrofi del simpatico si seguono dalla biforcazione posteriore dell'aorta in avanti fino al doppio arco aortico e poi più in avanti ancora lungo le carotidi fino all'altezza del ganglio del nervo pneumogastrico. Come negli embrioni di pollo anche in quelli di sorcio i due cordoni limitrofi stanno disposti ai lati dell'aorta dorsalmente ed un po' all'interno delle vene cardinali (fig. 6, tav. I). In corrispondenza del doppio arco aortico il cordone di un lato si porta immediatamente all'infuori dell'arco corrispondente, come pure è situato all'infuori rispetto alla corrispondente carotide. Dentro i limiti indicati i cordon

limitrofi appaiono in tutte le sezioni seriate, il che prova che essi sono già continui. Il diametro dei cordoni varia a seconda delle sezioni perchè si succedono a vicenda rigonfiamenti e strozzamenti, ma la struttura loro a questo stadio è uguale per tutto il cordone. A mediocre ingrandimento il cordone trasversalmente sezionato appare come un ammasso di nuclei immersi in una scarsa quantità di protoplasma. I nuclei sono aggruppati molto più strettamente che nel pollo, però a forte ingrandimento si vede ancora che ogni nucleo è circondato da un sottile orlo protoplasmatico più colorato e che si confonde alla periferia col protoplasma dei nuclei vicini. I nuclei in riposo presentano più corpuscoli nucleolari, quelli in scissione offrono le ordinarie figure cariocinetiche.

Nell'indicato stadio di sviluppo i rami comunicanti nella metà anteriore sono già abbozzati; essi sono composti da elementi cellulari affatto simili a quelli dei cordoni limitrofi e vanno da questi cordoni ai rami spinali ventrali ad una certa distanza dal punto di confluenza delle radici ventrali colle dorsali.

All'indietro partendo dalla regione epatica ed andando verso l'estremo posteriore dell'embrione si scorgono i rudimenti del corpo di Wolff, che a questo stadio oltre al canale di Wolff ed ai tubuli renali primitivi assai brevi presentano anche qualche accenno di glomerulo. All'interno di questi rudimenti l'epitelio peritoneale in sezioni trasversali disegna una linea sinuosa e non è delimitato dal lato dorsale, perchè un gran numero di elementi epiteliali sono sparsi a gruppi od a cordoni nell'enchima sottoaortico. In alcuni punti gli elementi epiteliali sono così prevalenti che formano molti strati estesi dal corpo di Wolff alla radice del mesenterio, e profondamente isolati od a colonne infiltrano il connettivo.

n altri embrioni dello stesso animale di 7 millim. l'abbozzo le capsule surrenali è già distinto. Esso comincia un po' avanti delle note delle ghiandole sessuali e termina al ıto in cui si stacca dall'aorta il tronco celiaco. I rapporti le note delle capsule sono diversi nei due lati. A questo

stadio l'abbozzo destro appare otto o dieci sezioni prima del sinistro, non fa rilievo verso la cavità peritoneale ed è situato lateralmente all'aorta; il sinistro sta al lato ed in pari tempo inferiormente a quest'arteria e spingendo in basso il peritoneo forma rilievo nella cavità peritoneale. L'abbozzo di destra colla sua estremità posteriore (base) sta in rapporto colla parete anteriore della vena cava ascendente nel punto in cui questa si incurva dal dorso al ventre per metter capo al cuore; quello di sinistra per tutta la sua estensione sta sotto alla vena cardinale di sinistra che nello stadio in considerazione è molto più sviluppata della destra. Sotto all'abbozzo si trovano altri piccoli vasi venosi.

Quanto alla struttura di tali abbozzi, questa si allontana alquanto da quella che ho descritto nel pollo. La conformazione a lobuli od a cordoni cellulari pieni non è molto distinta. Però a mediocre ingrandimento meglio che con forti obbiettivi si può ancora osservare un raggruppamento degli elementi che ricorda i cordoni cellulari del pollo, solo che non hanno limite netto, massime quando più gruppi degli stessi elementi stanno vicini fra loro (fig. 24, tav. IV). Nei lobuli non vi ha nemmeno molto distinto il contorno degli elementi, il quale non appare ben delimitato nemmeno coi più forti ingrandimenti (fig. 18, tav. III). Come ho detto molti lobuli stanno addossati l'uno all'altro, altri invece sono divisi da vasi o da lacune irregolari in cui si trovano globuli rossi giovani; altri infine sono separati da gruppi di elementi più colorabili che sono di provenienza dalle note del simpatico. Tali gruppi sono in numero più esiguo che nel pollo, e sono abbastanza rari nella metà anteriore delle note delle capsule, dove assumono forma di sottili cordoni (fig. 18); sono più numerosi nella metà posteriore e colà formano grossi noduli. La fig. 24 ripete appunto la disposizione degli elementi simpat nella parte posteriore della nota di sinistra. Detti elemei formano un nucleo al centro, il quale si continua in un c done dorsale, che va a sua volta a metter capo all'ansa f nita dal simpatico e cingente ventralmente l'aorta nel pu

in cui questa emette l'arteria celiaca. Siccome l'ansa ha una direzione obbliqua, così non è caduta intera sotto la sezione, ma esaminando i tagli che immediatamente precedono o susseguono si può con facilità seguirla tanto verso il ganglio del cordone limitrofo che verso la linea mediana dove si continua dal lato opposto. Anche il cordoncino simpatico ritratto a forte ingrandimento nell'altra figura citata (fig. 18) trovasi in connessione col cordone limitrofo mediante un ramo che passa dal suo lato interno.

I limiti degli abbozzi delle capsule in questo stadio non sono esattamente determinabili. Infatti, come rilevasi anche dalla fig. 24, i lobuli epiteliali periferici sono meno delimitati dei centrali e si perdono in fuori confondendosi col mesenchima; è questa una particolarità, la quale ha fatto credere per lungo tempo alla derivazione degli elementi dei lobuli dal mesoderma. Nel limite estremo anteriore si trovano ancora cordoni epiteliali in connessione coll'epitelio germinativo; fra questi alcuni dirigendosi in alto vanno ad incontrare un altro cordoncino derivato dal cordone limitrofo (fig. 23): si ripete adunque qui un fatto che io ho già descritto più volte nel pollo. Anche dietro l'estremità opposta si scorgono per lungo tratto numerosi cordoni epiteliali che si possono accompagnare fino presso alla radice del mesenterio; questi però non entrano a costituire le capsule surrenali.

Un'altra particolarità da notarsi è l'intimo rapporto che hanno i lobuli sì epiteliali che simpatici colle pareti delle vene vicine, il qual fatto attirò anche l'attenzione di Brunn e di Gottschau. In alcuni punti sembra che i lobuli facciano protrusione nel lume stesso della vena; questa inoltre si apre largamente per mettersi in comunicazione coi seni venosi dell'abbozzo (vedansi le fig. 8, 9, 10 prese da stadi più avanzati). C' fece credere a Gottschau che gli elementi della capsula s arenale originassero dall'endotelio dei vasi. Del resto può a causato tale errore di interpretazione anche la circostanza c le pareti di questi vasi mandano veramente delle gemme; n ueste sono date da elementi vaso-formatori di forma e

grandezza assai variabile, molto colorabili e presentanti figure cariocinetiche irregolari o multipolari con produzione di cellule giganti. Anche io sulle prime fui ingannato dalla vivace colorazione di tali elementi, simile a quella che assumono le cellule del simpatico, per cui li ho ritenuti come note simpatiche, ma la considerazione del loro modo di moltiplicarsi ed un più attento esame, cioè l'aver trovato negli stadi successivi al loro posto dei vasi, mi fece poi accorto dell'errore.

Dal confronto delle figure si può arguire che il punto di sviluppo del sorcio, di cui è ora discorso, corrisponde a quello in cui trovasi l'embrione di coniglio di tredici giorni. Or bene Gottschau nel coniglio di tredici giorni vide bensì dietro l'aorta l'abbozzo del cordone limitrofo ma non trovò alcuna connessione tra il medesimo e le note delle capsule surrenali. Secondo l'A. dette note a tale stadio sarebbero appena rappresentate da un accumulo di nuclei che a destra sta sulla parete dorsale della vena cava, a sinistra sulla parete dorsale di un'altra vena. L'accumulo di nuclei comprenderebbe la parete del vaso fino all'endotelio, ciò fa supporre che egli non abbia avuto davanti che una gemma vasoformatrice, oppure un ganglio nervoso. Secondo me, Mitsukuri era già stato più esatto: egli vide le note delle capsule nel coniglio al 12° giorno, e sebbene le faccia provenire in parte dal simpatico, in parte dal mesoderma, dai suoi disegni tuttavia risulta manifesta la relazione loro oltre che col simpatico, anche coll'epitelio germinativo. Infatti nella fig. 3 della sua tavola è ritratta una sezione trasversale dell'embrione corrispondente alla porzione anteriore delle capsule, ed in essa si notano elementi irregolarmente aggruppati che ricordano quelli della mia fig. 23, i quali elementi stanno in rapporto coll'epitelio peritoneale. Nella sua fig. 4 Mitsukuri ha disegnato un'altra sezione presa più all'indietro, ed ivi la nota della capsula costituit[a] da un lobulo appare separata solo per mezzo di una piccol[a] vena da un cordone germinale; dietro ed all'interno del lobulo sta un ganglietto simpatico. L'A. dà anche una figur[a] di una sezione posteriore delle note delle capsule di conigli

a 14 giorni, nella qual figura appaiono molti lobuli i quali circondano un gruppo centrale di elementi più colorati che trovansi in relazione col simpatico. **Gottschau** nemmeno al giorno decimoquarto potè constatare la formazione degli abbozzi a cordoni sia pure indeterminati; anche a questo stadio egli trovò tali abbozzi rappresentati da un semplice accumulo di nuclei.

In altri embrioni di sorcio di millim. 7,5 la delimitazione dell'abbozzo delle capsule surrenali, sebbene ancora incompleta, è tuttavia maggiore che nello stadio sopra considerato. La delimitazione appare specialmente nella porzione media della lunghezza della nota, nella qual regione questa è separata dall'epitelio germinativo per mezzo di un setto connettivo, mentre dal lato interno e superiore il limite è segnato dal decorso di nervi oppure da un tessuto in cui si trovano grandi lacune vascolari, mentre altre sono in via di formazione. I rapporti topografici sono i medesimi che nello stadio precedente (fig. 7, tav. I).

Invece tanto anteriormente che posteriormente i limiti continuano ad essere indecisi. In avanti vi sono ancora cordoni epiteliali in rapporto coll'epitelio peritoneale; pare però che il limite anteriore corrisponda ad un ganglio del simpatico che si trova in vicinanza della radice del corpo di Wolff, perchè dietro al ganglio i lobuli epiteliali si trovano più uniti ed affettano nell'insieme una forma ovale a grande diametro dorso-ventrale.

Essendosi sviluppata una maggior quantità di vasi fra i lobuli delle capsule, questi appaiono meglio circoscritti, ma del resto non hanno subìto altri cambiamenti rispetto allo stadio antecedente. Si possono con facilità seguire i cordoni cellulari del simpatico fino in mezzo ai lobuli centrali fra cui si distribuiscono in prevalenza. Nella fig. 7 rilevasi che il cor-
[illegible] ne simpatico di destra manda un prolungamento nella nota
[illegible] lla capsula, poi prosegue in giù e si mette in rapporto
[illegible] n un piccolo ganglio che sta sulla parete ventrale della
[illegible] na cava.

In sezioni posteriori a quella considerata nella fig. 7 la vena cava volgendo verso il dorso si mette alla stessa altezza della vena cardinale del lato opposto (vedasi la fig. 8 tratta da uno stadio ulteriore); e per questo fatto la nota della capsula che nella fig. 7 appare superiormente alla vena, si vede poi schiacciata sul lato interno del vaso, ed infine si prolunga tanto che diventa inferiore e perciò simmetrica con quella del lato opposto. A questo livello il simpatico forma l'ansa ventrale all'aorta e il prolungamento dell'abbozzo delle capsule ponendosi sotto all'ansa tende ad avanzare verso la linea mediana.

Nel citato prolungamento si verifica una attiva formazione di grossi vasi, come lo si può desumere dalla presenza fra i lobuli di una quantità di grandi elementi polinucleati e di altri con nuclei in gemmazione ovvero in istato di cariocinesi multipla. Detto prolungamento si continua per lungo tratto all'indietro dove più dove meno sviluppato e prende sempre stretti rapporti coi rami ventrali e colle altre anse e gangli che il simpatico tanto nel sorcio che nel pollo ripete più volte lungo il decorso posteriore dell'aorta.

In embrioni di 8 millim. notansi rispetto a quelli di millim. 7,5 le seguenti modificazioni.

Negli abbozzi del simpatico, sia intra sia estracapsulari, si conta un numero enorme di elementi in cariocinesi e di altre piccole cellule notevoli per la scarsissima quantità di protoplasma e per la facoltà che hanno di assumere un'intensa colorazione, motivo per cui i cordoni simpatici si fanno molto appariscenti.

Le capsule surrenali sono oramai sufficientemente delimitate; dietro alle medesime i lobuli epiteliali che ne costituivano il prolungamento posteriore, rimasti ora fuori dalle capsule, accompagnano la prima ansa addominale del simpatico fino alla linea mediana dove si incontrano con quelli dell'opposta parte. Nelle figure 8, 9, 10 della tavola I sono rappresenta tre sezioni prese saltuariamente da sei sezioni in serie (c la 1ª, la 4ª e la 6ª) in cui tal fatto appare evidente. Nella gura 8 il prolungamento caudale della capsula destra sta i

feriormente alla vena cava è quindi simmetrico al prolungamento sinistro che sta inferiormente alla vena cardinale; sotto all'aorta vi è il cordone simpatico che forma ansa; nella fig. 9 il cordone simpatico appare solo nella parte mediana, invece i prolungamenti delle capsule si trovano portati in dentro; nella fig. 10 finalmente i due prolungamenti vengono a mutuo contatto. Fra i lobuli di destra e quelli di sinistra vi sono esili setti, perciò non vi ha una fusione perfetta.

Fra questi lobuli caudali per opera delle già menzionate cellule vaso-formatrici si sono prodotte numerose e grandi lacune che dànno al tessuto l'aspetto del fegato embrionale.

Riguardo al simpatico noterò anche che come nello stadio di 4 millim. esso non può essere seguìto che fino in corrispondenza al ganglio del vago. Il ganglio sfeno-palatino a questo momento è già formato: esso non presenta i caratteri istologici degli altri gangli simpatici a parità di sviluppo, invece ha una struttura affatto simile a quella dei gangli spinali e dell'enorme ganglio di Gasser che trovasi vicinissimo e di cui probabilmente lo sfeno-palatino è una parte staccata. Anche circa al ganglio oftalmico, avuto riguardo alla struttura embrionale ed al rapporto di vicinanza col ganglio del quinto paio, mi pare probabile che, come sostiene Remak, esso abbia pure origine da quest'ultimo ganglio. I citati due fatti, quand'anche fossero perfettamente dimostrati, non sarebbero però in contraddizione coi miei reperti circa ai gangli del simpatico, perchè se è vero che alcuni anatomici e fisiologi considerano i due gangli sunnominati come simpatici, non è meno vero che vi hanno anche molte ragioni anatomiche e fisiologiche per porli nella stessa categoria dei gangli spinali. Al più si potrebbe considerarli di natura mista come già fece Krause (43) e si può allora sempre supporre che la nota simpatica si aggiunga ai medesimi ad un periodo tardivo del loro sviluppo.

Negli embrioni di sorcio di 12 millim. i reni definitivi, avendo à preso un grande sviluppo, hanno respinto in avanti ed alto le capsule surrenali. Queste hanno ora un inviluppo

proprio e sono isolate da tutti i lati fuorchè dall'angolo interno. Esse assumono ora una forma di piramide quadrangolare ad apice anteriore smussato ed ad angoli arrotondati; sono situate in avanti ed in pari tempo al di sopra dei reni, in fuori ed al di sopra dell'aorta, e si appoggiano col loro dorso contro le colonne del diaframma (fig. 25).

Può dirsi che incomincia da questo momento a differenziarsi nelle capsule una sostanza midollare ed una sostanza corticale: al centro infatti ed in maggior vicinanza alla base che all'apice si trovano in prevalenza gruppi di elementi piccoli, assai colorabili, e perfettamente comparabili con quelli del cordone limitrofo che sta immediatamente vicino (fig. 25 *S*); altrove invece si trovano altri elementi di grandezza media meno colorabili e con contorno malamente delimitato. Questi sono gli elementi derivati dai lobuli epiteliali, i quali si estendono del resto ancora fino al centro della capsula insinuati fra i gruppi dei piccoli elementi.

La struttura lobulare primitiva ancora osservabile verso la periferia è scomparsa nelle parti interne. Nella porzione corrispondente alla sostanza corticale al posto delle grandi lacune vascolari si trovano ora piccoli capillari od anche piccole arterie. In relazione coi vasi si osservano numerosi bottoni costituiti da piccole cellule vaso-formative destinate a produrre una intera serie di nuovi capillari. Siccome poi questi, come scorgesi negli stadi successivi, hanno una direzione radiale, così essi costituiscono la principale cagione della scomparsa della struttura primitiva e del nuovo ordinamento degli elementi a colonne radiali alternate coi vasi. Nelle cellule di provenienza epiteliale si trovano ora numerose figure cariocinetiche. Al centro le lacune vascolari persistono, una fra le altre più grande diverrà la vena centrale. Altri grandi vasi sono in via di formazione dacchè si ritrovano grandi cellule uni- o polinucleate molto colorabili, ed io tanto in questi che in altri organi ho osservato che è costante la relazione che passa fra la grandezza dei lumi vasali che vanno formandosi ed il diametro delle cellule vasoformative. In questo tempo le capsule

possono essere considerate come un organo ematopoietico, perchè sia nelle lacune midollari, sia nei capillari corticali si trova un gran numero di globuli rossi in scissione indiretta, mentre nel sangue circolante, nell'aorta ad esempio, i globuli rossi in mitosi a tale epoca sono scarsissimi.

Esaminando le sezioni trasversali, ad un certo punto, come ad esempio nella sezione riportata nella fig. 25, si può seguire un cordone cellulare avente la stessa struttura dei gruppi di elementi midollari, che parte dalla prima ansa del simpatico (*Gs*) e si dirige dorsalmente verso il centro della capsula surrenale. Tenendo conto dei mutamenti di luogo avvenuti, la fig. 25 può perfettamente essere raffrontata colla fig. 24; è adunque il cordone posteriore, vale a dire il più considerevole fra tutti, quello che nello stadio in parola si può ancora seguire come tale, gli altri si sono già trasformati in fasci di fibre nervose.

I lobuli epiteliali caudali che primitivamente costituivano come un prolungamento delle note delle capsule surrenali, a questo stadio, separati dai detti organi, si trovano fra i due reni e formano lobi che acquistano la loro maggior potenza all'indietro delle arterie renali. Le lacune vascolari che si notavano fra i lobuli sono ora scomparse, e questi sono strettamente addossati fra loro divisi solo da trabecole connettivali. Gli elementi che li costituiscono hanno un contorno netto ed acquistano col barocarminio un colore rosso bruno. Essi sono ancora in relazione coi fasci e coi gangli nervosi simpatici, e come ho detto, dietro alle arterie renali formano un grosso lobo, o piuttosto due lobi uniti sulla linea mediana mediante una porzione più assottigliata. Sulla stessa linea fra detto istmo e l'aorta esiste un ganglio nervoso simpatico che forma come il centro del plesso renale.

gli stadi successivi viene a completarsi la nuova dispo- ne degli elementi nella capsula surrenale, la quale con- poraneamente per l'arrotondarsi dei suoi angoli cangia e di forma, da piramidale cioè si fa conica.

embrioni di sorcio di 15 millim. al centro della capsula

appaiono aumentati gli elementi colorabili, e si trovano ancora in attivo stato di proliferazione. Nella zona corticale si distingue uno strato medio in cui gli elementi epiteliali in figura di prismi allungati disposti a pila formano brevi colonne dirette nel senso radiale; fra le colonne vi sono capillari pieni di giovani cellule rosse. Nello strato esterno perdura la conformazione a lobuli.

Nello stadio di 18 millim. si distinguono nelle capsule surrenali tre zone. Nella zona interna vi sono gruppi di elementi divisi da lacune vascolari. In alcuni gruppi gli elementi conservano i caratteri primitivi, sono cioè molto piccoli con nucleo molto colorabile, in altri le cellule sono un po' più grandi ed il loro nucleo è meno colorabile. La zona media contiene molte specie di elementi: le colonne cellulari della corteccia vi penetrano in tutto il suo spessore; inoltre vi sono altre cellule simili a quelle del centro, un gran numero di altri elementi polimorfi connettivi, nonchè alcune cellule giganti. In mezzo si trovano molti vasi di diverso calibro e gruppi di globuli rossi in via di sviluppo. La zona corticale profondamente è divisa in tante colonne cellulari, e verso la superficie ricorda la zona glomerulare delle capsule di certi mammiferi, perchè ivi gli elementi in parte sono ancora disposti a lobuli in parte a cordoni diversamente contorti.

Finalmente nel neonato (23 millim.) le capsule surrenali presentano una struttura quasi simile a quella che esse hanno nell'adulto, si differenzia solo per una maggior estensione della zona reticolare. Nella zona corticale le colonne cellulari si sono spinte fino alla periferia; nella loro parte profonda gli elementi, che le compongono, contengono delle gocciole adipose, invece nel limite fra il terzo medio ed il terzo esterno trovansi almeno molto di frequente in mitosi; gli stessi elementi misurano da 12 a 15 μ ed hanno un nucleo grande d 6-8 μ. Le colonne cellulari penetrano profondamente nella sostanza reticolare ma in nessun caso arrivano fino alla sostanz midollare. Nella sostanza reticolare gli elementi, in grand prevalenza, sono molto più piccoli, sono cioè grandi μ 8-1

ed il loro nucleo ne misura 3-4. Nella sostanza midollare alla nascita gli elementi sono pressochè tutti uguali per forma ed aspetto, colle seguenti dimensioni del loro corpo 20-24 μ, e del loro nucleo 8-10 μ. Dette cellule hanno forma poliedrica, sono regolarmente disposte, e costituiscono lobi o grossi cordoni limitati fra loro da trabecole connettive, e rispetto alle lacune vascolari solo da un semplice strato endoteliale. Vi è un limite ben netto fra la sostanza midollare e la reticolare.

Io non ho potuto seguire a più brevi intervalli la metamorfosi di struttura delle capsule surrenali, però già dal detto mi pare che si possa con probabilità dedurre che nessun elemento epiteliale entri nella definitiva costituzione della sostanza midollare. Già nello stadio di 15 millim. tali elementi sono scarsi al centro e forse sono cacciati in fuori dagli elementi simpatici attivamente proliferanti, oppure possono essere distrutti per dar luogo alla formazione nel loro posto di lacune vascolari. Fatto è che in embrioni di 18 millim. gli elementi midollari sono altri più, altri meno colorabili a seconda dei vari gruppi, ma tutti hanno dimensioni minori degli elementi corticali. Alla nascita poi li troviamo tutti più grandi di questi ultimi elementi, e tanto a piccoli che a forti ingrandimenti per gli altri loro caratteri istologici sono da questi facilmente discernibili.

Mi rimane ancora circa gli embrioni di sorcio di dire qualche parola sui lobuli epiteliali che nello stadio di 12 millim. si trovano fra i reni. Questi lobuli a 15 e 18 millim. si fanno più voluminosi per ingrossamento dei loro elementi, i quali comprimendosi a vicenda da tondeggianti si fanno poligonali. Già a 18 millim. gli elementi si caricano di goccioline adipose, poi acquistano l'apparenza di cellule adipose.

Vi è quindi una buona parte delle note epiteliali delle capsule ·renali che non entra nella costituzione di questi organi, . restandone ben presto separata forma dei lobi di un teso molto assomigliante al tessuto connettivo adiposo, i quali i si estendono ventralmente all'aorta fra i due reni all'intro delle arterie renali. Questi lobi che probabilmente non

hanno più che un debolissimo valore fisiologico, morfologicamente considerati hanno una grande importanza, perchè a me sembra che i medesimi si possano fare omologhi ai corpi interrenali studiati da Balfour negli elasmobranchi.

Dopo che ho notato le particolarità di sviluppo delle capsule surrenali nel sorcio, non farei che ripetermi se mi estendessi anche a descrivere le diverse fasi di sviluppo di tali organi negli embrioni degli altri mammiferi che io ho studiati, perchè tranne qualche accessorio di poca importanza i fatti fondamentali rimangono sempre gli stessi. Io mi limiterò quindi a dire solo qualche cosa a riguardo dello sviluppo delle capsule nell'embrione di capra di cui ho avuto sei diversi stadi (11, 15, 18, 25, 37, 58 millim.).

Gottschau ha riconosciuto il primo accenno delle capsule surrenali nella pecora in embrioni di 9 millim., e lo vide composto di nuclei, i quali, narra l'A., sono difficilmente distinguibili dai nuclei delle ghiandole genitali. Lateralmente a tali note trovò degli abbozzi di gangli simpatici. Questa confessione di Gottschau della difficoltà di distinguere gli elementi delle note delle capsule dagli elementi delle ghiandole genitali costituisce già una prova indiretta della derivazione comune degli stessi dall'autore non sospettata. Mihalkovics nello stesso animale non vede che si possano distinguere le due note se non più tardi cioè in embrioni di 18-20 millim.; io però negli embrioni di capra di 11 millim. ho veduto che almeno in parte si possono distinguere, cioè in quei punti in cui fra le due note si interpongono vasi venosi. Lo stadio di 11 millim. si può bene raffrontare con quello di sorcio di 7 millim., gli è però alquanto anteriore.

Nella fig. 26 (tav. IV) ho riportato una sezione trasversale della parte posteriore degli abbozzi in discorso. All'indentro del corpo di Wolff l'epitelio peritoneale tanto sul rigonfiamento genitale come all'indentro del medesimo fino alla radice del mesenterio forma molti rilievi verso la cavità peritoneale, presentasi cioè come frangiato. Esso è composto

molti strati di cellule, ed inoltre a tratto a tratto si approfonda nel mesenchima soprastante formando irregolari colonne più o meno lunghe. Alcune di queste colonne o cordoni si vedono già portate molto in su all'interno del glomerulo, sui lati dell'aorta, altre occupano tutto il rigonfiamento genitale. Queste costituiscono le note dei cordoni segmentali, quelle unite ad altri cordoni più interni provenienti direttamente dall'epitelio peritoneale costituiscono le note delle capsule surrenali. In altre sezioni poste più in avanti i vasi venosi che già osservansi nella sezione disegnata si portano alquanto in basso e si collocano trasversalmente, segnando così il confine fra le due note. L'abbozzo simpatico sta al lato interno e superiore, esso si ripete più volte dall'avanti all'indietro, ma a questo tempo non si è ancora interposto fra gli elementi epiteliali.

In embrioni di 15 millim. le note delle capsule restano un po' meglio delimitate e si fa in esse più distinta la struttura lobulare. All'interno e dorsalmente a tali note si formano grossi gangli simpatici, i quali mandano propaggini cellulari che si insinuano fra i diversi lobuli epiteliali. Le note delle capsule si prolungano posteriormente più che nel sorcio e si avvicinano fino a toccarsi fra loro in basso sulla linea mediana. Un po' più in avanti sono appena separate fra loro dall'ansa del simpatico e da nervi che si recano nel mesenterio. Non ho praticate sezioni più caudali.

Negli stadi di 25 millim. le capsule restano ben delimitate da un involucro connettivo. Il ganglio o i gangli dorsali molto sviluppati, contrariamente a quanto avrebbe trovato Gottschau nella capra, restano in parte compresi dall'involucro. Dai gangli partono molti cordoni cellulari e in pari tempo anche nervi i quali si dirigono verso il centro delle psule. La distinzione delle due sostanze della capsula in esti embrioni deve farsi molto tardi, perchè anche in quelli 58 millim. non è che appena iniziata; solo prevalgono al itro i gruppi di piccole cellule eguali a quelle del simpatico.

RIASSUNTO.

I fatti principali da me esposti possono essere così riassunti:

1° Nell'embrione di pollo le note dei cordoni limitrofi del gran simpatico appaiono molto tempo prima di quello che era stato indicato fin qui dai diversi embriologi, cioè sono riscontrabili alla metà del terzo giorno di incubazione. A questo tempo i gangli intervertebrali sebbene in via di sviluppo, non hanno tuttavia raggiunto le radici inferiori spinali e si trovano perciò ancora molto lontani dagli abbozzi del simpatico.

2° Per questo fatto si deve rigettare la teoria che i gangli del simpatico derivino dall'estremità inferiore dei gangli intervertebrali; invece è da ritenersi molto probabile che provengano dalle protovertebre vere.

3° Avanti che si stabilisca la connessione fra i gangli del simpatico e le branche ventrali dei nervi spinali, detti gangli formano già un cordone continuo; i rami comunicanti tanto nel pollo che nel sorcio si stabiliscono più tardi per un prolungamento formato da elementi cellulari che dai gangli del cordone dirigesi verso i nervi spinali.

4° Il gran nervo intestinale di Remak con grande probabilità si origina indipendentemente dalle note del simpatico colle quali più tardi entra in rapporto. Detto nervo appare dapprima sulla parete dorsale dell'intestino posteriore e si prolunga poi in avanti.

5° Tanto nel pollo che nei mammiferi l'epitelio peritoneale, che si estende dal limite interno dei reni primitivi alla radice del mesenterio nel terzo medio del corpo di Wolff, proliferando forma delle gemme o cordoni cellulari, i quali dirigendosi dorsalmente penetrano nel mesenchima che sta inferiormente alle vene cardinali ed all'aorta. Ivi una parte di questi cordoni, quelli cioè che corrispondono ai rigonfiamenti genitali, formano i cosidetti cordoni segmentali o sessuali o midollari. Alcune vene che si sviluppano sopra i cordoni segmentali di-

vidono questi da altri cordoni o lobuli epiteliali di pari origine che stanno dorsalmente ai primi. Detti lobuli epiteliali in unione ai bottoni epiteliali che si formano anteriormente e ad altri che si trovano internamente alle ghiandole genitali formano la parte epiteliale delle note delle capsule surrenali, la quale si sviluppa poi nella sostanza corticale.

6° Ma le capsule surrenali hanno anche in parte origine dalle note del simpatico che ne formano la sostanza midollare. Queste note sono date da cordoni cellulari che si staccano ripetute volte dai cordoni limitrofi nella località in cui questi stanno dorsalmente alle note epiteliali delle stesse capsule. Detti prolungamenti cellulari penetrano fra i lobuli dal loro lato interno e dorsale e si sviluppano fra i lobuli in gruppi cellulari distinti.

7° Nel pollo i gruppi cellulari simpatici restano sempre distribuiti fra i lobuli; nei mammiferi si accumulano specialmente nel centro delle capsule, e quivi prendendo un particolare sviluppo riescono probabilmente ad eliminare tutti gli elementi di origine epiteliale e formano da soli il parenchima della sostanza midollare.

8° Nel pollo i lobuli epiteliali rimangono sempre sotto tal forma; nei mammiferi la struttura lobulare va presto perduta; gli elementi epiteliali prendono un altro orientamento, si costituiscono cioè a colonne disposte in senso radiale divise da vasi.

9° Nel sorcio, e probabilmente anche negli altri mammiferi parte dei lobuli epiteliali, cioè i posteriori, che primitivamente sono in continuità colle note delle capsule surrenali, restano divisi da queste, mantengono rapporti con altri gangli del simpatico e trasformati in lobi adiposi si situano fra i reni. Questi lobi possono essere comparati coi corpi interrenali Balfour.

EPILOGO.

Risulta evidente dai miei reperti la partecipazione delle note del simpatico nella costituzione degli organi surrenali, le quali vi formano la parte più importante, cioè la sostanza midollare. Su questo dato i miei risultati concordano perfettamente con quelli che nel coniglio ebbe Mitsukuri, le cui ricerche furono a lui suggerite da Balfour. Dietro tali risultati si ha la spiegazione di un fatto già constatato da gran numero di osservatori, cioè che i numerosi filamenti nervosi che mettono capo alle capsule surrenali si distribuiscono quasi interamente nella loro sostanza midollare. Fusari (44) inoltre, affatto recentemente essendo riuscito ad ottenere la reazione nera del Golgi sulle stesse capsule, ha trovato che le fibre nervose rispetto agli elementi midollari hanno un contegno molto simile a quello delle fibre spirali rispetto alle cellule gangliari simpatiche degli anfibi, oppure a quello delle fibre nervose che vanno a metter capo ai nidi cellulari di Mayer.

Inoltre la natura nervosa della sostanza midollare ci addita la causa della forma anatomica particolare di certe neoformazioni che si verificano nella medesima e che Virchow (45) solamente per considerazioni istologiche non esita a collocare fra i gliomi. Si è notata anche una intera serie di casi di contemporanea malattia delle capsule e del plesso solare, e fra tali casi in alcuni si trovava interessata quasi esclusivamente la sostanza midollare. Così Marchand (46) ci descrive un caso di particolare alterazione del simpatico estendentesi dal ganglio cervicale superiore al plesso solare e diffusa anche lungo molti nervi spinali, in cui anche la sostanza midollare delle capsule era in pari modo tutta alterata; la sostanza corticale invece si presentava in molti luoghi intatta.

Il rapporto genetico del simpatico colle capsule surren[e] spiega anche la mancanza totale o l'imperfetto sviluppo [di] tali organi nei casi di emi- od anencefalia, quando conte[m]poraneamente manca lo sviluppo del simpatico; mentre inve[ce]

esistono bene sviluppati od anche più sviluppati del solito in casi di anencefalia o spina-bifida quando i gangli del simpatico sono normali. Anche il Valenti, passando in rivista tali casi, conclude che piuttosto che col sistema nervoso centrale lo sviluppo delle capsule è legato a quello del gran simpatico, la qual conclusione per altro è in evidente contraddizione coi suoi reperti per i quali verrebbe escluso il simpatico dalla formazione degli organi in discorso.

L'origine della sostanza corticale delle capsule dall'epitelio germinativo dà ragione della analogia di struttura che si è trovata da Creygton tra i follicoli ovarici abortiti e la sostanza corticale delle capsule; io non saprei invece trovare altra analogia fra la sostanza midollare capsulare ed i cordoni midollari ovarici se non quella della loro conformazione a cordoni, ma riguardo agli elementi rispettivi questi diversificano sia per le dimensioni, sia per l'aspetto, che per la reazione chimica. Quanto poi ai rapporti di influenza o funzionali delle capsule cogli organi genitali, sospettati dagli antichi e giustificati in parte da alcuni fatti citati da Gottschau e da Meckel (47), si potrebbe forse trovarne la spiegazione pensando alle relazioni di vicinanza fra questi organi nella vita embrionale ed alla innervazione loro da branche simpatiche comuni. Non è assurdo anche il supporre che filamenti nervosi passino direttamente da un organo all'altro.

Ho accennato più volte nel corso della mia esposizione che molti lobuli epiteliali facenti parte dell'abbozzo delle capsule non entrano nella definitiva costituzione di questi organi: ora questo fatto serve mirabilmente a spiegare la presenza assai frequente di organi surrenali accessorii, i quali possono, a seconda che accludono o meno una nota simpatica, constare delle due sostanze delle capsule normali, oppure della sola ›stanza corticale. Così Rokitansky riferisce di un gran umero di casi di capsule surrenali accessorie esistenti sotto l peritoneo sia nel plesso renale, sia nel plesso solare, sia nche nello stesso ganglio semilunare; Creygton descrive ·lle capsule surrenali accessorie contenenti le due sostanze

delle capsule normali; altri casi di capsule accessorie sono riferiti da Marchand (48), Pisenti (49), Moglia (50), Canalis (51), e Grawitz (52), sia attorno al plesso solare, sia sotto alla capsula dei reni, sia nei legamenti larghi. Un'altra serie di casi trovati da Dagonet, Cacciola, D'Ajutolo e Chiari è citata nel lavoro di Valenti.

Una parte accessoria delle capsule sono anche i lobi interrenali da me trovati nel sorcio. A proposito di questi lobi, una volta stabilita la loro omologia col corpo interrenale di Balfour, bisognerà modificare le altre omologie messe avanti dallo stesso embriologo, si dovrà cioè ritenere che nessuna parte delle capsule dei mammiferi è omologa al corpo interrenale degli clasmobranchi, ma che invece le medesime si devono interamente comparare coi corpi surrenali metamerici di questi pesci, o meglio con quelli degli anfibi.

Se questo confronto è giusto le capsule surrenali dei mammiferi deriverebbero filogeneticamente da un organo che si ripete segmentalmente; ora vi sono nello sviluppo delle capsule dei mammiferi vestigia di questa antica disposizione metamerica. Il Valenti si sforzò di cercare queste vestigia nelle rilevatezze epiteliali che si ripetono all'indentro dei rigonfiamenti genitali, ma Mihalkovics prima e poi io stesso abbiamo verificato che le capsule non derivano solamente da quelle proliferazioni epiteliali, ma altresì da tutte le altre parti dell'epitelio germinativo. Inoltre la metameria non è nemmeno dimostrata per i cordoni segmentali, e infatti lo stesso Mihalkcovics rigetta per essi l'appellativo di segmentali proponendo di chiamarli invece *cordoni sessuali* (sexualstränge). Quindi dal lato della nota epiteliale la metameria non si può stabilire. Mi sembra invece che la metameria debba ricercarsi dal lato delle note simpatiche; infatti negli elasmobranchi, stando a Balfour, i corpi metamerici appartengono esclusivamente al simpatico, le note epiteliali vi si aggiungono solo negli anfibii, quasi fossero parti accessorie. Per queste considerazioni volendo trovare nei vertebrati superiori un accenno dell'antica disposizione metamerica delle

capsule surrenali, mi pare sia più giusto il riconoscerlo nei cordoncini cellulari che ripetendosi dall'avanti all'indietro si staccano ventralmente dal cordone limitrofo del gran simpatico e penetrano fra le note epiteliali. Così l'estremità ventrale di ognuno di tali cordoncini col gruppo dei lobuli epiteliali che stanno attorno alla medesima potrebbe rappresentare un corpo surrenale primitivo. Siccome poi non tutti tali cordoncini nè tutti i lobuli epiteliali entrano nella formazione delle capsule surrenali, così è possibile che alcuni fra i corpi surrenali primitivi esclusi prendendo in seguito uno sviluppo indipendente possano dar luogo a capsule surrenali accessorie. È in questo senso che converrei con Valenti nel considerare le capsule accessorie come vestigia di una disposizione metamerica di tali organi.

Ciò invece in cui io non convengo con Valenti è nel considerare le capsule surrenali dei mammiferi come organi rudimentali; io trovo invece nelle stesse dei caratteri di perfezionamento e non di degenerazione morfologica. Se noi nei diversi tipi animali passiamo in rivista i vari organi, vediamo che quelli fra loro che hanno o acquistano maggior importanza, da segmentali quali sono nei tipi inferiori passano nelle forme più alte a poco a poco a centralizzarsi, a riunirsi ed a costituire alla fine un organo pari il quale ha una struttura assai più complicata che gli organi multipli primitivi, e ne deriva che esso compie molto più perfettamente la sua funzione. Ora questo fatto si verifica per le capsule surrenali, da segmentali negli elasmobranchi e negli anfibi passano a formare un solo organo pari nei rettili, poi si centralizzano ancora dippiù nello stesso tempo che la loro struttura si complica. Già negli uccelli questa è più semplice che nei mammiferi; in quelli vi ha ancora ripetizione della stessa struttura nelle diverse parti, in questi ciò non accade più. Si differenziano nell'organo surrenale più zone, ognuna con una struttura speciale, ognuna con speciali elementi; vi ha infine un apparato vascolare complicatissimo diversamente conformato nelle diverse parti. Epperò le capsule surrenali nei mammiferi sono più altamente

organizzate che negli altri vertebrati, e per questo fatto non si possono considerare come organi rudimentali.

Altro però è parlare di organi rudimentali o meno, altro è discutere se la funzione di questi organi si esplichi a preferenza in certi periodi della vita piuttosto che in certi altri. Riguardo alle capsule surrenali tale questione che si confonde con quella della funzione speciale di tali organi, fu per molti anni assai dibattuta e fu quella che aprì il campo alle indagini sperimentali.

Queste sorsero infatti dopo che Addison (53) avendo raccolto undici osservazioni di malattia bronzina con lesione contemporanea delle capsule surrenali, pose la teoria che questi organi siano adibiti a regolare la formazione del pigmento.

Brown-Sequard (54) fu il primo a tentare l'ablazione delle capsule surrenali negli animali e trovò che questi dopo l'operazione morivano rapidamente presentando convulsioni, stordimenti e coma. Concluse che le capsule hanno un'essenziale importanza per la vita dell'animale, e che hanno col centro cerebro-spinale numerose relazioni di influenza. Io non istarò a riferire la lunga polemica che questa ipotesi fece suscitare fra lo stesso autore e Gratiolet, Philippeaux ed altri, i quali contrapponendo al primo un'altra serie di esperimenti, conclusero invece che le capsule non erano necessarie alla vita e che nemmeno la funzione pigmentaria stava in rapporto con questi organi. A simili conclusioni vennero anche Martin-Magran, Ordonnez, Harley, Schiff, Berruti e Perosino. Solo Nothnagel e Foà avrebbero trovate traccie di pigmentazione, ma leggerissima, e Di Mattei e Russo-Giliberti (55) una rapida e transitoria diminuzione dei globuli rossi del sangue; del resto nessun altro fenomeno importante. Questo seguito di esperienze con risultati quasi totalmente negativi ed i dati più recenti dell'embriologia che nei vertebrati superiori escludevano dalla formazione delle capsule surrenali l'intervento delle note del simpatico avevano indotto molti fisiologi e clinici nella persuasione che tali organi almeno nell'adulto non avessero alcuna importanza funzionale.

Poi comparvero i lavori di **Tizzoni** (56, 57), in cui quest'autore dopo una lunga serie di esperienze venne a conclusioni che ricordano da lontano quelle di **Brown-Sequard**. Egli avrebbe trovato che tanto nei conigli che nei cani operati di esportazione dei corpi surrenali si ha per seguito costante la morte, la quale può avvenire ad un periodo più o meno lontano dal tempo dell'operazione; che oltre a macchie pigmentali più o meno estese si hanno costanti e gravissime lesioni anatomiche nel sistema nervoso centrale.

Alle esperienze di Tizzoni seguirono quelle di Stilling (58), per le quali si venivano ad infirmare i risultati del primo. Stilling dopo l'ablazione dei corpi surrenali non trovò mai nessuna alterazione nè al simpatico nè nei centri nervosi cefalo-rachidici; solo in alcuni casi ebbe delle macchie pigmentali. L'A. considera i reperti di Tizzoni come il risultato di una infiammazione propagata dal sito d'operazione al canale rachidico; egli cambiando metodo operativo tolse di mezzo questa causa d'errore. L'A. ci fornisce anche importanti spiegazioni della frustaneità degli esperimenti. Egli trovò che l'organo se non viene levato totalmente, tende a riprodursi, se viene levata una capsula, l'altra si ipertrofizza, in ogni caso si ha sempre l'ipertrofia delle capsule surrenali accessorie; e siccome queste, massime negli animali che si usano negli esperimenti, sono molto frequenti, così si avrebbe la spiegazione della grande differenza che si può avere negli esiti dell'esperienza. Ora la tendenza delle capsule a riprodursi e l'ipertrofia compensatoria che fu anche prima dimostrata da Tizzoni (59), da **Canalis** (51), da **Di Mattei** (60) e dallo stesso Stilling (61), ci dimostra che le capsule surrenali funzionano non solo nella vita fetale, come vorrebbero alcuni, ma anche nell'adulto. Fondandosi su questi fatti Stil- ıg conclude dimostrandosi convinto della importanza fisio- ica di tali organi. La funzione delle capsule surrenali sa- be specialmente quella loro attribuita da Addison, cioè regolerebbero la formazione del pigmento.

tesi di Addison del resto malgrado abbia fatto sorgere

vive discussioni anche fra i clinici e gli anatomo-patologi appare tanto più ben posta quanto più ingrossano i dati statistici e con questi le osservazioni diligenti. Axel Syöström riferisce ad esempio che Lewin in 298 casi di malattia bronzina trovò costantemente un'alterazione nelle capsule surrenali, e nel caso descritto da Axel l'alterazione (tubercolosi) era limitata alle capsule surrenali. In un caso, l'unico, che io ho potuto osservare di malattia di Addison rinvenni la tubercolosi al polmone ed alle capsule surrenali; nessun altro organo addominale presentava tubercoli.

Riepilogando, dai miei proprî reperti e dalle considerazioni di varia natura sovraesposte si possono trarre i seguenti corollarii:

1° Le capsule surrenali, organi aventi una doppia origine embrionale epiteliale e nervosa, hanno pure un doppio significato funzionale, come *ghiandole*, cioè, e come *parti del sistema nervoso simpatico*.

2° Le capsule surrenali dei mammiferi sono più altamente organizzate che gli organi corrispondenti dei vertebrati inferiori, e come tali non possono essere considerate come *rudimentali*.

3° La funzione loro non dura solo la vita embrionale e fetale, ma persiste nell'adulto.

Indice Bibliografico.

---

(1) **Bartolini**, « Anatomia Bartholiniana ». Ludguni, 1684.

(2) I. B. **Morgagni**, « Epistolarum anatomicarum ad scripta pertinentium celeberrimi viri A. M. Valsavae ». Venetiis, 1741. Pars altera. Epistola XX.

(3) **Haller**, « Elementa physiologica », 1858.

(4) H. H. **Meckel**, « Abhandlungen aus der menschlichen und vergleichenden Anatomie und Physiologie ». Halle, 1806.

(5) **Nagel**, « Ueber die Structur der Nebennieren » (*Müllers's Archiv*, 1836).

(6) **Rathke**, *Müller's Archiv*, 1839.

(7) C. **Bergmann**, « Dissertatio de glandulis suprarenalibus ». Goettingen, 1839.

(8) **Ecker**, « Ueber der feineren Bau der Nebennieren beim Menschen und den vier Wirbelthierklassen » Braunschweig, 1846.

(9) H. **Frey**, « On the suprarenal capsules » (*Todd Cyclopedia of anatomy and physiology*. London, 1849).

(10) F. **Leydig**, « Beiträge zur mikroskopischen Anatomie und Entwickelungsgeschichte der Rochen und Haye ». Leipzig, 1852.

(11) F. **Leydig**, « Anatomisch-Histologischen Untersuchungen über Fische und Reptilien ». Berlin, 1853.

(12) **Remak**, « Untersuchungen über die Entwickelung der Wirbelthiere ». Berlin, 1855.

(13) A. **Kölliker**, « Handbuch der mikroskopischen Anatomie ». Leipzig, 1854.

(14) **Luschka**, « Der Hirnhang und die Steissdruse ». Berlin, 1860.

(15) B. **Werner**, « De capsulis suprarenalibus ». *Dissert. inauguralis*. Dorpat, 1857.

(16) I. G. **Zellweger**, « Untersuchungen über die Nebenniere ». Frauenfeld, 1858.

(17) **Vulpian**, « Note sur quelques réactions propres à la substance des capsules surrénales » (*Compt. rendus*, tom. XLIII, 1856).

(18) **Palladino**, Lezioni di istologia e fisiologia generale. Napoli, 1867.

(19) F. **Morano**, « Della natura della sostanza midollare delle capsule urrenali » (*Bollettino dell'Associazione dei Nat. e Med. di Napoli*, nno V, 1870).

(20) I. **Henle**, « Ueber das Gewebe der Nebenniere und der Hypohyse » (*Zeitschrift f. rat. Medic.* 3 Reihe, Bd. XXIV, 1865).

(21) A. Brunn, « Ein Beitrag zur Kenntniss des feineren Baues und der Entwickelungsgeschichte der Nebennieren » (*Archiv für mikr. Anat.*, Bd. VIII, 1872).

(22) C. Creighton, « A theory of the homology of the suprarenals bodies based on observations » (*The Journal of Anatomy and Physiology*, vol. 13, 1878).

(23) F. M. Balfour, « Monograph on the development of Elasmobranch fishes ». London, 1878.

(24) F. M. Balfour, Handbuch der vergleichenden Embryologie. Iena, 1881, Bd. II.

(25) M. Braun, « Bau und Entwickelung der Nebennieren bei Reptilien » (*Arbeiten aus dem zoologischen Instit. zu Würzburg*, Bd. V, 1879).

(26) A. Kölliker, « Entwicklungsgeschichte der Menschen und der höheren Thiere ». Leipzig, 1879.

(27) K. Mitsukuri, « On the development of the suprarenal bodies in Mammalia » (*Quaterly jurnal of micr. science. New. Ser.*, vol. XXII, 1882).

(28) M. Gottschau, « Structur und embrionale Entwickelung der Nebennieren bei Saugethieren » (*Arch. f. Anatomie u. Physiol.*, 1883).

(29) Janosik, « Bemerkungen über die Entwicklung der Nebennieren » (*Arch. f. mikrosk. Anat.*, Bd. XXII, 1883).

(30) Weldon, « Note on the origin of the suprarenal bodies of Vertebrales » (*The quaterly journ. of. micr. science*, 1884).

(31) G. v. Mihalkovics, « Untersuchungen über die Entwickelung des Harn und Geschlechsapparates der Amnioten » (*Internation. Monatschrift f. Anat. und Hyst.*, Bd. II, 1885).

(32) G. Valenti, « Sullo sviluppo delle capsule surrenali nel pollo ed in alcuni mammiferi » (*Atti della Società Toscana di Scienze naturali*, vol. X, 1889).

(33) Remak, « Ueber die Entwickelung des Hühnchens im Ei » (*Müller's Archiv*, 1843).

(34) His, Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbelthieres. Die erste Entwickelung des Hühnchens im Ei, 1868.

(35) Götte, « Die Entwickelungsgeschichte der Unke ». Leipzig, 1872.

(36) Forster und Balfour, Grundzüge der Entwickelungsgeschichte, 1876.

(37) Balfour, « The development of nerves in Elasmobranch fishes » (*Philosophic. transact.*, 1876).

(38) Schenk und Birdsall, « Die Entwickelung des Sympathicus » (*Mittheilungen aus d. embryol. Institut in Wien*, Bd. I, 1879).

(39) A. D. Onodi, « Ueber das Verhältniss der cerebrospinalen Faserbündel zum sympathischen Grenzstrange » (*Arch. f. Anat. und Entwick* 1884).

(40) A. D. Onodi, « Ueber die Entwickelung der Spinalganglien und de Nervenwurzeln » (*Internat. Monatschrift f. Anat. u. Hist.*, Bd. I, 1884

(41) A. D. Onodi, « Ueber die Entwickelung des sympatischen Nerve system » (*Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXVI, 1885).

(42) R. Wiedersheim, « Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbelthiere ». Iena, 1886.

(43) W. Krause, « Ueber die Doppelnatur des Ganglion ciliare » (*Morphol. Jahrb.*, Bd. VII).

(44) R. Fusari, « Sulla terminazione delle fibre nervose nelle capsule surrenali dei mammiferi » (*Atti della R. Accademia delle Scienze di Torino.* Aprile 1891).

(45) Wirchow, « Pathologie des tumeurs ». Paris, 1871, tom. III.

(46) Marchand, « Ueber eine eigenthumliche Erkrankung des Sympaticus der Nebennieren und der peripherischen Nerven » (*Virchow's Archiv*, Bd. 81, Heft 1, 1880).

(47) G. F. Meckel, « Manuale di anatomia descrittiva normale e patologica », vol. IV, Napoli, 1827).

(48) Marchand, « Ueber accessorische Nebennieren in Ligamentum latum » (*Arch. f. path. Anat. und. Phys.*, Bd. XCII, Heft. I, 1883).

(49) G. Pisenti, « Di alcune capsule surrenali accessorie trovate in un coniglio ». Perugia, 1887.

(50) C. Moglia, « Un nuovo caso di struma soprarenale accessoria nel rene » (*Bollettino delle Sc. Med. di Bologna,* serie VI, vol. XXI, 1888).

(51) P. Canalis, « Contribution à l'étude du développement et de la pathologie des capsules surrenales » (*Internation. Monatschr. f. Ant. und Hist.*, Bd. IV, 1887).

(52) G. Grawitz, « Die sogennaten Lipome der Niere » (*Virchow's Arch.*, Bd. 93, 1883).

(53) Ih. Addison, « On the constitutional and the local Effects of disease of the suprarenal Capsules ». London, 1855.

(54) Brown-Sequard, « Recherches expérimentales sur la physiologie des capsules surrénales » (*Compt. rend.* Sed. 25 agosto, 8 settembre 1856, 9 febbraio, 21 dicembre 1857).

(55) E. Di Mattei ed A. Russo-Giliberti, « Sull'influenza della estirpazione delle capsule soprarenali sull'organismo animale » (*Atti della Società di Scienze Naturali ed Econ. di Palermo*, 1886).

(56) G. Tizzoni, « Sugli effetti dell'estirpazione delle capsule surrenali nel cane » (*Memorie dell'Accademia delle Scienze dell'Ist. di Bologna*. Serie IV, Tomo IX, 1888).

(57) G. Tizzoni, « Ueber die Wirkungen der Extirpation der Nebennieren auf Kaninchen » (*Beiträge zur path. Anat. von Ziegler,* Bd. VI, 1889).

(58) H. Stilling, « A propos de quelques expériences nouvelles sur la maladie d'Addison » (*Revue de Médecine,* année X, ottobre 1890).

(59) G. Tizzoni, « Sur la physio-pathologie des capsules surrénales » rch. *Italiennes de Biologie*, vol. III, 1884).

(60) E. Di Mattei, « Sull'ipertrofia compensatoria delle capsule surnali » (*Giorn. della R. Accad. di Medic. di Torino*, anno 1886, n. 5).

(61) H. Stilling, « Note sur l'hypertrophie compensatrice des capsules prarénales » (*Revue de Médecine*, n. 6, 1888).

Spiegazione delle Figure.

Le lettere hanno lo stesso valore in tutte le figure.

A - aorta.
C - vene cardinali.
Ca - vena cava.
Ce - celoma.
Cl - cloaca.
Co - notocorda.
Cs - cordoncino simpatico.
Csd - capsula surrenale destra o suo abbozzo.
Css - capsula surrenale o suo abbozzo.
dW - dotto di Wolff.
E - emazie.
Gg - ghiandole genitali.
Gi - ganglio intervertebrale.
Glom - glomerulo del corpo di Wolf.
Gp - gemme dell'epitelio peritoneale.
Gs - ganglio simpatico.
Le - lobulo epiteliale.
Lm - lamina muscolare.
M - muscoli.
Me - mesenterio.
Msp - midollo spinale.
N - nervo.
Nsp - nervo spinale.
P - protovertebra vera.
Pr - pronefros.
R - reni.
Rc - ramo comunicante.
S - cordone limitrofo del simpatico.
Tc - tronco celiaco.
V - vena.
W - corpo di Wolff.

FIG. 1. — Sezione trasversale fatta in corrispondenza all'estremità anteriore del corpo di Wolff di un embrione di pollo di ore 60. — Ingrand. 60 diam.

FIG. 2. — Sezione della stessa regione di un embrione di pollo di ore 66. — Ingrandimento 60 diam.

FIG. 3. — Sezione trasversale alquanto obliqua nel senso dorsoventrale della stessa regione di un embrione di pollo ad ore 72. — Ingrandimento 60 diametri.

FIG. 4. — Sezione trasversa della stessa regione di un embrione di pollo di ore 78. — Ingrand. 60 diametri.

FIG. 5. — Sezione trasversa della stessa regione in un embrione di pollo di ore 78. — 60 diametri.

FIG. 6. — Sezione trasversa della stessa regione in un embrione di *Mu musculus* di mm. 4. — 60 diametri.

FIG. 7. — Sezione trasversa condotta a livello delle ghiandole genital in un embrione di sorcio di mm. 7,5. — 60 diametri.

FIG. 8, 9, 10. — Sezioni trasversali consecutive condotte dietro al livell del tronco celiaco. — 60 diametri (Embrione di sorcio di mm. 8).

FIG. 11, 12, 13, 14, 15, 16. — Sezioni trasversali di embrioni di pollo condotte immediatamente avanti o sull'estremo limite anteriore dei rigonfiamenti genitali. — 60 diametri. — 11, embrione di ore 84; 12, di ore 90; 13, 14, di ore 96; 15, di ore 102; 16, di ore 114.

FIG. 17. — Sezione trasversale di un embrione di pollo di ore 96 (regione toracica), comprendente il cordone limitrofo del simpatico col ramo comunicante. — Zeiss. $^1/_{12}$.

FIG. 18. — Sezione di un abbozzo della capsula surrenale di un embrione di sorcio di 7 mm. — Ingrand. 740 diam. Zeiss Obb. 2. Oc. immersione omog. Koristka $^1/_{16}$.

FIG. 19. — Sezione longitudinale di un ramo comunicante simpatico appartenente ad un embrione di pollo di ore 114: *a*, estremo centrale; *b*, estremo laterale. — Zeiss 2 $^1/_{12}$.

FIG. 20. — Sezione longitudinale del nervo intestinale di Remak a 120 ore di sviluppo. — Diam. 600 circa.

FIG. 21. — Sezione trasversa della capsula surrenale di un embrione di pollo ad ore 120. — Diam. 500 circa.

FIG. 22. — Sezione trasversa un po' obliqua dall'alto al basso e dall'avanti all'indietro di un embrione di pollo di ore 120, condotta a livello della cloaca. — Diam. 60.

FIG. 23. — Sezione trasversa di un embrione di sorcio di mm. 7 comprendente l'epitelio peritoneale ed il mesenchima che sta fra il corpo di Wolff e l'aorta nel terzo anteriore dei reni primitivi. — Diam. 375.

FIG. 24. — Sezione trasversa della nota di una capsula surrenale (sinistra) di un embrione di sorcio di mm. 7. — Diam. 160.

FIG. 25. — Sezione trasversa della p. anteriore del rene e della posteriore della capsula surrenale di un embrione di sorcio di mm. 12. — Diam. 60.

FIG. 26. — Sezione trasversa della regione infraglomerulare e sottoaortica di sinistra corrispondente alla plica genitale di un embrione di capra di mm. 11. — Diam. 120.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 15.

Prof. **Domenico MAJOCCHI**

Direttore della Clinica Dermosifilopatica nella R. Università di Bologna.

L'ACTINOMYCES

IN UNA CONCREZIONE DEL CONDOTTO WHARTONIANO (1)

CONTRIBUTO ALLO STUDIO

INTORNO ALLA

ORIGINE PARASSITARIA DEI CALCOLI SALIVALI

(Tav. VIII)

È da qualche anno che vado studiando i calcoli salivali sotto il rispetto micologico ed etiologico. Si comprende a tutta prima come la ricerca dei microfiti in queste concrezioni calcaree possa condurci a spiegare, *in qualche caso*, anche la loro etiologia: dappoichè è noto già, come molti osservatori abbiano riconosciuto una tale origine per alcune di esse, specie per quelle delle vie lacrimali.

Il concetto adunque della natura *parassitaria* dei calcoli non è nuovo: ma, sebbene antico, è ben lungi dall'essere ancora accertato in tutti con prove dimostrative microscopiche e con esperimenti micologici indiscutibili. Che anzi è d'uopo confessare che le osservazioni, raccolte fin qui, sono povere fatti: onde non sarà per riuscire vano che io riferisca le

1) Di questo caso feci una breve comunicazione al Congresso Medico Siena nel discorrere della « Dermo-attinomicosi primitiva dell'uomo ». di *Arch. de Biologie* (Prof. Mosso).

risultanze dell'esame microscopico, istituito sopra un discreto numero di calcoli salivali del condotto whartoniano e stenoniano. E tanto più di buon grado mi accingo a questo lavoro, in quanto che per le concrezioni salivali mancano affatto ricerche micologiche, per cui le poche, che io sono per esporre, potranno servire come punto di partenza per future indagini, alle quali spero di partecipare anch'io con una più ricca suppellettile di casi clinici.

Intanto mi piace subito avvertire, come nell'esame microscopico di due calcoletti whartoniani, sottilmente polverizzati e stemperati in acqua distillata e *sterilizzata*, mi occorresse di vedere, nel primo (mercè adatta colorazione con soluzione di fucsina) innumerevoli microrganismi *bastonciniformi e sferici* in mezzo a detriti calcarei, a cristalli e ad elementi istologici (cellule epiteliali pavimentose) — e nell'altro (con questo stesso metodo di colorazione, ovvero senza colorazione alcuna) l'actinomyces, di cui più tardi farò la descrizione particolareggiata, formando esso oggetto principale di questo lavoro.

Dopo quest'ultimo reperto microscopico mi venne in animo di ripetere le stesse indagini sopra altri calcoli salivali, alcuni raccolti da me, e altri donatimi gentilmente da egregi colleghi.

Come si vedrà nei due quadri qui uniti, i calcoli esaminati da me, sono *sedici*, dei quali dodici appartengono al condotto whartoniano, e quattro a quello stenoniano. Tranne i due segnati coi N[i] 11 e 12 (di cui s'ignora la storia) tutti furono trovati in individui di sesso maschile.

Non mi fermerò a descriverli ad uno ad uno per non ripetere quanto si trova in succinto nei quadri statistici sopraindicati. Dirò in complesso che fra tutti i caratteri fisici dei calcoli salivali, si è tenuto speciale conto del loro peso, valutato mercè la *bilancia di precisione*. Ricorderò ancora cl nel fare questo esame mi ha colpito la presenza di una men branella, involgente alcuni dei *calcoli whartoniani*, ment siffatto rivestimento non ho mai visto nei pochi *calcoli ste noniani* che ebbi occasione di studiare.

Non voglio però tacere che di alcuni s'ignora qualche particolarità clinica di non lieve importanza, per cui ne rimane monca la storia e ne svantaggia la statistica (1).

Del rimanente per il fine modesto, che io mi sono prefisso, mi sembrano sufficienti le poche notizie, da me raccolte; in quanto che, come ho dichiarato, è mio intendimento di contribuire alla etiologia di alcuni, e non di tutti i calcoli salivali, nei quali, coll'esame microscopico, potei verificare sempre la presenza di numerosi microrganismi.

E di questi meritano singolare attenzione alcuni, il *leptothrix buccalis*, lo *streptothrix F.* e l'*actinomyces* sopramentovato, perchè caratteristici per la loro morfologia, e sopratutto per la loro azione calcificatrice; della quale però godono non soltanto essi, ma ancora altri microfiti, riuscendo così a ridurre, sia dai tessuti normali e patologici, sia dai prodotti di secrezione, i sali calcarei; o in altri termini, la loro presenza è accompagnata assai di frequente da depositi di sali di calce.

Prima però di entrare nella descrizione di quelle particolarità risguardanti i microfiti sopraindicati, voglio esporre brevemente la tecnica, da me seguita, nell'esame microscopico dei calcoli suddetti, perchè altri, volendola ripetere e verificarne i risultati, possa avere una guida in simile ricerca.

Nel preparare i calcoli salivali 1° li ho precedentemente lavati con soluzione di sublimato all'uno per mille, e appresso li ho stropicciati con cotone, bagnato nell'etere, per allontanare tutti gli elementi accidentali, che potevano aderire alla loro superficie; 2° Appresso colla punta di una lama *sterilizzata* alla fiamma, raschiato lo strato più superficiale del calcolo,

---

(1) Fra coloro, che in Italia si occuparono dello studio dei calcoli salivali, meritano di essere citati il Dott. Feroci e il Prof. Vigezzi, Direttore della Clinica Chirurgica Veterinaria di Parma.

Dott. Feroci, « Contribuzione alla storia dei calcoli salivali con alcune osservazioni relative a quelle concrezioni » (*Commentario Clinico di Pisa*, anno 1877).

Prof. Vigezzi, « Sui calcoli salivali negli animali domestici (Lezione). (*Clinica veterinaria*, N. 7 e 8, Milano, 1879).

ne ho lasciato cadere la polvere sopra un primo vetrino da orologio ben netto. In un secondo vetrino ho posto lo strato medio e interno del medesimo, e così di seguito, se il calcolo era relativamente voluminoso, e costituito da più strati distinti, raschiavo in punti diversi la sostanza di ognuno, che alla sua volta raccoglievo in altrettanti vetrini; 3° Ho stemperato detta polvere con qualche goccia di acqua distillata, *sterilizzata*, mescolandola con una bacchetta di cristallo, pur essa *sterilizzata*, finchè non pigliava un aspetto lattiginoso. Pei calcoli duri, invece dell'acqua *sterilizzata*, ho fatto uso di una leggiera soluzione cloridrica. Talvolta per maggiore semplicità di tecnica trattavo direttamente la detta polvere con una goccia di glicerina cloridrica debolissima, nella quale veniva chiusa, e così pian piano si rendevano trasparenti gli elementi microscopici, e specie i microrganismi, senza decalcificarsi completamente. Per la concrezione whartoniana, contenente actinomyces, più volte mi appigliai a questo metodo. 4° Se alcuna delle concrezioni era rivestita da una membranella, questa veniva distaccata, e quindi lavata, prima in una soluzione cloridrica leggiera, poscia in acqua distillata, e da ultimo rigonfiata in soluzione acetica per essere esaminata col microscopio, o direttamente, se sottile, o dopo dilacerazione, se alquanto spessa.

Il liquido lattiginoso di ogni singolo vetrino, ottenuto dalla sostanza dei calcoli salivali col metodo suddescritto, veniva preparato in due modi per l'esame microscopico:

1° *Senza alcuna colorazione*, ponendone una goccia su parecchi porta-oggetti che venivano esaminati sotto il microscopio, e quindi chiusi in glicerina, se tali da conservarsi.

2° *Con colorazione*, fatta mercè soluzione alcoolica satura di fucsina, alcoolico-acquosa di violetto di metile, di genziana, di bleu di metilene secondo uno dei metodi ordinari già noti (1)

---

(1) Ecco quello seguito da me:
1° Distensione di una goccia di liquido sul porta-oggetto, in sottile strato e in forma quadrata, a seconda della grandezza del copri-oggetto.

I quadri seguenti ci porranno sott'occhio il risultato complessivo dell'esame microscopico dei singoli preparati, dai quali sarà ad ognuno agevole il rilevare, accanto ai caratteri fisici dei calcoli whartoniani e stenoniani, anche i diversi elementi morfologici in essi rinvenuti.

2° Diseccamento rapido alla lampada del liquido spalmato.

3° Colorazione con una delle suddette soluzioni, e quindi lavanda con acqua distillata per togliere l'eccesso del colore.

4° Altro diseccamento.

5° Chiarificazione con olio di garofani e xilol.

6° Chiusura in balsamo-xilol.

N.	Caratteri fisici	Peso in grammi	Esame microscopico	Osservazioni
10*.	Di forma cilindrica, del volume di un piccolo fagiuolo, di superficie scabrosetta, di colore gialliccio, di consistenza gessosa, senza stratificazione.	0,107	Micrococchi in grandi masse. Diplococchi scarsi, ma assai voluminosi. Scarso numero di bacilli, alcuni giacenti su laminette calcaree. Epiteli piatti.	Trovata in un uomo. Se ne ignorano le particolarità storiche (Inzani).
11*.	Di forma ovale, del volume di un amandorla, di superficie granulosa, di colore bianco-gialliccio, di consistenza gessosa.	0,507	Fili di *leptothrix* in discreto numero, isolati, o raccolti in fascicoli. Micrococchi e forme bacillari in scarso numero.	Se ne ignora la storia (Inzani).
12*.	Del volume e della forma di una fava, di superficie scabra, di colore gialliccio da un lato, e dall'altro bruniccio, di consistenza dura, coperta in parte da una membrana sottile, lucente e aderentissima.	0,930	Presenza di numerosi bacilli corti e con estremità arrotondate, e di epiteli pavimentosi.	Se ne ignora la storia (Inzani).

NB. — Tutti i numeri, portanti l'asterisco, segnano i calcoli salivali, appartenenti alla raccolta del Prof. Inzani.

II. — Concrezioni dei condotti stenoniani dell'uomo.

N.	Caratteri fisici	Peso in grammi	Esame microscopico	Osservazioni
1.	Grande quanto un fagiuolo, di colore bianco-giallastro, di forma ovale, di consistenza dura.	—	Presenza di numerosi microrganismi bacillari, e di micrococchi disposti a zooglee.	Non fu pesata, perchè in massima parte era stata impiegata per l'esame microscopico. Trovata in un giovane di 28 anni.
2.	Del volume di una nocciuola, di forma ovale, di colore bianco-giallognolo, di consistenza dura, di superficie leggiermente granulosa, e nella sua parte più esterna con stratificazioni.	3,800	Numerosi cespugli di *leptothrix*, come si vede nel tartaro dentario. Masse di zooglee. Forme bacillari diverse. Scarse cellule epiteliali.	Donatami dagli egregi colleghi, dott.[i] Pettenati e Leonardi di Borgotaro. Uscita spontaneamente dalla faccia interna della gota d'un infermo.
3.	Avente gli stessi caratteri della precedente.	3,780	Presenza di numerosi bacilli e di fili di *leptothrix* in discreto numero.	Donatami dal distinto collega Dott. Franzolini di Udine che trovolla (luglio 1875) in un infermo sofferente da due anni di dolori alla gota, ove si determinò un ascesso interno.
4.	**Grande quanto un grano d'orzo, di colore bianco-giallastro, ridotta in frammenti, stratificata.**	0,075	**Scarsi microrganismi sferici. Qualche filamento di *leptothrix*.**	**Donatami dallo stesso Dott. Franzolini. Estrazione mediante piccola incisione del canale eseguita sul calcoletto medesimo. In un uomo di 28 anni circa, da molti mesi soggetto ad intercorrenti ingorghi della parotide di quel lato.**

Come si vede in questi quadri, fra gli elementi istologici, ben conservati nelle varie preparazioni, ho trovato non raramente epitelî pavimentosi per lo più isolati, e talvolta riuniti in piccole lamine, dovute alla desquamazione delle pareti dei condotti salivali. Spesso i microrganismi erano aderenti alle cellule epiteliali, specie il leptothrix e l'actinomyces.

Colla decalcificazione un po' spinta si portavano a tale evidenza le cellule epiteliali da sembrare preparate di recente. Oltre a queste però si notavano cellule e frustoli vegetali, e pezzi di fili micelici di ifomiceti.

Di cristalli rinvenni ben pochi: infatti notai due sole volte nei calcoli whartoniani quelli caratteristici di ossalato di calce, e quelli aghiformi di sostanze grasse, solubili coll'etere e cloroformio. Nei calcoli stenoniani non ebbi mai a verificare i cristalli di ossalato.

Aggiungerò ancora che mercè l'esame microscopico delle membranelle di rivestimento di alcuni calcoli, ho trovato in esse una struttura fibrillare costituita da sottili fibrille assai stipate, disposte con svariato intreccio, visibili dopo prolungato rigonfiamento, e con adatta dilacerazione. Aderenti alle membranelle fibrillari ho scorto qualche volta epitelî pavimentosi, non formanti però un rivestimento continuo. Siffatte membranelle talvolta si addentravano nella sostanza del calcolo.

A mio avviso, la neoformazione delle medesime, è da ritenersi come l'effetto di un processo reattivo, sorto, ora uniformemente, ora parzialmente, alla periferia del calcolo, dalle cellule d'infiltrazione, per l'organizzazione delle quali si ebbe a compiere il descritto rivestimento.

Tutti questi diversi elementi talvolta ricoprivano e circondavano i microrganismi, tanto che era d'uopo allontanarli per non disturbare l'osservazione.

I.

E ora passo alla descrizione dei tre microrganismi sopraccennati, fermandomi dapprima sul *leptothrix* e *streptothrix F.*, i quali, come è noto, furono trovati più volte nelle concrezioni dei canalicoli lacrimali dal Graefe, dal Cohn, dal Goldzicher e dal Bajardi, e alla presenza loro fu attribuita la genesi delle medesime. Che anzi dall'analogia di struttura, e dall'identica azione calcificante di questi microrganismi, molto frequenti nei depositi calcarei suddetti, il Pomfick fu condotto a ritenere l'*actinomyces*, come *streptothrix* e *leptothrix* di una qualche specie *schizomicetica*.

Ma lasciando da parte siffatta considerazione morfologica, dai quadri sopraesposti è agevole il rilevare, come il *leptothrix* fosse assai frequente nelle concrezioni salivali, raccolto, o in fascetti ondulosi, o in piccole masse filamentose. Queste hanno disposizione varia e talvolta parvenze raggiate, e spesso sono ricoperte in gran parte da granuli calcarei, ovvero poggianti su lamelle epiteliali ben conservate e ancora sensibili ai colori. Su piastrine calcaree alquanto sottili, i fili *lettotrici* si mostrano, specie dopo una forte colorazione, assai evidenti alla periferia, mentre nel centro di esse non è possibile per la loro spessezza scorgere l'intreccio dei fili stessi. In alcune concrezioni era assai scarso il *leptothrix*, in altre invece era tanta l'abbondanza di questo da costituire gran parte della massa delle medesime: e allora nell'esame microscopico di questi preparati ho avuto quella stessa impressione che si riceve dall'esame del tartaro dentario, in cui il microrganismo suddetto è abbondantissimo; cosicchè se a questa identità di reperto microscopico, si voglia aggiungere i risultati presso a poco uguali dell'esame chimico in queste due forme di concrezione, noi avremo trovato l'analogia perfetta fra i calcoli salivali e il tartaro stesso dei denti.

Dello *streptothrix F.* trovai qualche raro esempio in queste concrezioni, mentre, secondo l'avviso di alcuni micologi, la

sua presenza sarebbe frequente nei depositi calcarei dei canalicoli lacrimali. Infatti è difficile, anche col più delicato metodo di decalcificazione, trovare il fungo con i suoi specifici caratteri in mezzo a detriti, o su laminette calcaree. Tuttavolta da qualche concrezione ottenni preparati che mostravano chiaramente masse di varia figura, rotondeggianti, quadrangolari, irregolari, costituite da sottili fili intrecciati in varia guisa, che però verso la periferia presentavano manifeste ramificazioni. Quando i fili venivano disgregati con una protratta decalcificazione, si presentavano acromici, però meno jalini di quelli *lettotrici*, spesso curvi, serpentini, e spiraliformi, e alcuni ramificati: si coloravano bene col metil-violetto, e meno colla soluzione satura di fucsina.

Per questi caratteri morfologici (principalmente per la reale ramificazione) se da una parte è facile il riconoscere i suddetti fili, distinti dal *leptothrix buccalis*, dall'altra è giusto identificarli collo *streptothrix*, avendo essi esatto riscontro con quelli descritti dal Foerter, dal Chon, dal Bajardi nei canalicoli lacrimali.

È mestieri però attendere che future ricerche abbiano a verificare la frequenza di tale reperto microscopico nelle concrezioni salivali, siccome fu accertato in quelle delle vie lacrimali, delle quali ho potuto anch'io avere in mano qualche esemplare per farne oggetto di studio (1).

---

(1) Ricerche comparative su due dacrioliti. — Per studio di confronto ho preso ad esaminare, col metodo sopradescritto due *Dacrioliti*, raccolti nella Clinica oculistica di Parma dal compianto Prof. Ponti, e favoritimi dall'egregio collega ed amico Prof. Gallenga. Ignorandone la storia, li ho distinti coi numeri 1 e 2.

Caratteri fisici. — N. 1 di forma ovale, di superficie irregolare, di colore bianco-sporco, del volume di un chicco di caffè, di consistenza calcarea. — N. 2, alquanto più grosso del primo, di forma subconica, di superficie irregolare, di colore biancastro, ma con punti giallicci, facile a sgretolarsi.

Esame microscopico complessivo di ambedue le dette concrezioni. — Detriti di elementi cellulari. Cellule purulente. Cellule epiteliali piatte Masse di cellule fusiformi, disposte ad embrice, fornite di un nucleo ovale uniformemente ricche di granuli calcarei e intramezzate da fibrille sottili

II.

Di maggiore importanza sembrommi il reperto microscopico dell'*actinomyces* in una concrezione salivale per rispetto alla sua etiologia (1). Dappoichè di questo fungo, dotato di caratteri morfologici speciali, è più facile, che non dello *strepto-*

Qualche frammento di vaso capillare assai distinto in mezzo agli elementi cellulari, i quali, in complesso, richiamano la struttura di un tessuto di granulazione calcificato. Da ultimo frammenti di pelo, e frustoli vegetali.

Oltre questi elementi istologici notaronsi in modo indubbio nel N. 2 diversi pezzi di *acarus syro*, di cui esistevano ancora lo scheletro chitinoso, e d'ordinario il tratto toracico cogli arti anteriori, forniti delle lunghe setole.

In quanto ai microrganismi si osservarono masse di micrococchi e bacilli di varia forma e grandezza. Non potei verificare la presenza dei fili di *leptothrix* e di *streptothrix*, ma in cambio trovai fili micelici, aventi tutti i caratteri dell'*oïdium albicans*.

Sebbene questo fungo fosse stato trovato nelle concrezioni dei canalicoli lacrimali (Bajardi, vedi lav. cit.) tuttavia mi fece meraviglia vedendolo qui così ben conservato, da poterlo ritrarre con più d'un disegno. In quasi tutti i preparati microscopici della concrezione suddetta mostravasi più o meno abbondante entro laminette di colore giallognolo, costituite da una sostanza omogenea, diafana, tanto che permetteva di vederlo in tutte le sue minute particolarità morfologiche. Infatti notavansi, ora isolati, ora uniti quasi parallelamente, o formanti una larga rete, *fili micelici* semplici e ramificati, articolati, ma con articoli di varia lunghezza, con contorni lisci, con contenuto chiaro e trasparente, e tutti di colore un po' giallognolo, colore partecipatogli dalla sostanza delle laminette, entro cui erano come immersi. Dentro i fili, a distanze diverse, apparivano granuli sferici assai splendenti, e spesso qualche filo ne conteneva uno per ogni articolo. All'estremità dei medesimi (solo però in alcuni) sporgeva un grosso conidio, ovale, contenente uno o due granuli rotondi, brillanti, come ancora oltre i conidî *terminali*, notavansi sul contorno dei fili stessi conidî *laterali*, mentre questi talvolta erano isolati e sparsi qua e là. Le suddescritte laminette resistevano alla soluzione di ac. cloridrico, e perfino all'ac. cloridrico concentrato.

(1) Lo studio microscopico di questa concrezione fu da me impreso sul principio del 1891, e subito mi accorsi della presenza dell'actinomyces. Ho atteso fino ad oggi, prima di pubblicare il reperto microscopico, non solo per accertare meglio le indagini prime, ma ancora per consultare la bibliografia sull'attinomicosi e sopra i calcoli salivali; e perciò mi contentai, come ho detto, di una semplice comunicazione al Congresso di Siena.

thrix F. l'esame microscopico, anche quando esso abbia subìto la degenerazione calcarea. Infatti dopo anni si possono scorgere nelle masse attiniche i conidi claviformi, disposti a raggiera, che raramente vengono attaccati e disfatti dal processo calcificatore.

Malgrado la sua *specificità morfologica* e il suo facile riconoscimento, io credo che nessuno prima di me abbia visto e descritto l'*actinomyces nei condotti whartoniani,* sia dell'uomo, sia degli animali. Per assicurarmi di ciò non ho mancato di consultare la ricca bibliografia e di pigliare notizie da distinti specialisti intorno a questo punto dell'argomento. Ma, non essendo venuto a mia cognizione alcun esempio di simil genere, stimai opportuno fare soggetto di studio il caso occorsomi, sia per la sua importanza etiologica, sia per l'interesse che esso può avere nella dimostrazione dell'invasione del fungo per la *via orale.* Dappoichè mentre non è più discutibile il quesito dell'ingresso dell'actinomyces per la cavità della bocca, è d'uopo invece vedere per quali punti di questa cavità esso penetri più facilmente; o in altri termini, se oltre la mucosa gengivale, linguale, oltre gli alveoli e i follicoli tonsillari, invada anche i condotti salivali, e da questi passi, o nelle regioni prossime, o in sedi più lontane.

Del pari non m'è noto altro reperto microscopico dell'actinomyces nelle concrezioni calcaree, tranne quello, ottenuto da Reymond e Perroncito nelle *concrezioni dei canalicoli lacrimali*, ricordato dal Bajardi in un suo brevissimo, ma importante lavoro intorno alle medesime (1). Ond'è che il caso, che io son per narrare, acquista, come dissi, non lieve importanza, perchè porge un nuovo contributo allo studio dell'actinomyces, come generatore di calcoli.

(1) « Sulla natura parassitaria delle concrezioni dei canalicoli lacrimali », Bajardi, *Libro di memorie dedicato al Prof. Sperino*, pag. 329. Tipografia Celanza e Comp. 1884.

Caratteri fisici della concrezione.

Prima però di descrivere le particolarità delle indagini microscopiche, voglio brevemente ricordare che nell'esame delle varie concrezioni dei canali whartoniani, ne trovai (1) *una grande quanto un chicco di caffè, non uniformemente friabile, ispida, perchè contornata da piccole rilevatezze stalattitiformi, avente colore giallo-zolfo in alcuni punti, e giallo-rossiccio in altri, rivestita in parte da una sottile membranella aderentissima.* Ho detto *non friabile uniformemente*, perchè, ove era assai dura, e facilmente si sgretolava, e ove offriva una certa pieghevolezza alla pressione, finchè però si spezzava. Benchè le concrezioni salivali si presentino bene spesso di colore giallastro, giallo-pagliarino, pure l'intensità e l'ineguaglianza di esso in quella suddescritta, mi colpirono siffattamente, da costringermi a porre maggiore attenzione nell'esame delle medesime.

Caratteri microscopici.

Pertanto coi metodi sopraindicati ne ho preparato su parecchi portaoggetti alcuni frammenti, che chiusi ed esaminati sotto il microscopio (con medio ingrandimento) mostrano *masse raggiate*, le quali, benchè invase da sali calcarei, sono nullameno evidentissime, principalmente verso la loro periferia, e da un occhio esercitato si fanno riconoscere facilmente per *aggregati* di actinomyces. Questi stessi preparati, visti con più forte ingrandimento, permettono all'osservatore di distinguere entro le dette masse raggiate parecchie *stellette*, limitate nei loro contorni da gracili bastoncini e da sottili clave, mentre nel centro delle medesime non si vede che una sostanza granulosa bianco-opaca, effetto della infiltrazione calcarea. Le forme *stellate* sono di varia grandezza, alcune iso-

(1) Quella segnata al N. 7 del 1° quadro statistico.

late, altre contigue, o saldate insieme in modi svariati (fig. 1ª, 4 e 5ª). Tuttavolta i detriti calcarei lasciano appena intravedere la presenza del fungo, ora sotto la forma di masse finamente striate, rotondeggianti, o irregolari nei loro margini, ora sotto l'aspetto di piastre giallo-opache, le quali però in una parte, o nell'altra del loro contorno mostrano sporgenti le punte terminali dei *conidii claviformi*. In qualche preparato s'incontrano masse d'actinomyces semilunari, assai chiare nel centro, aventi contorni dentellati, sottilmente raggiati a seconda della disposizione e conservazione dei conidî stessi (fig. 2ª).

Ve n'hanno però altre in forma *discoide* nelle quali i conidî clavati, essendo posti verticalmente, e strettamente fra di loro ravvicinati, appaiono, visti di fronte, siccome tanti corpicciuoli rotondi od ovali, più o meno rifrangenti, che dànno un' impronta moriforme alla superficie convessa del disco; in queste, sebbene trasparenti, l'osservazione microscopica riesce talvolta assai difficile, e soltanto coll'aiuto della vite micrometrica si possono vedere nella parte più periferica gruppetti di clave conidiali e sottilissimi fili, terminanti con vere biforcazioni, ovvero a guisa di rampinetto. D'ordinario questi fili micelici sono assai numerosi e passano fra cellule epiteliali piatte, delle quali, se facilmente si possono isolare alcune, restano però sempre, in massima parte, impigliate tra i fili stessi della massa attinica. La presenza di queste cellule si deve indubbiamente alla desquamazione delle pareti del condotto ghiandolare, siccome fatto reattivo allo stimolo del fungo (fig. 4ª).

Spesso l'evidenza maggiore o minore di esso è l'effetto del grado diverso di decalcificazione. Infatti quando questa riesce imperfetta, allora non si vede la massa raggiata dell'*actinomyces*, bensì l'immagine come velata, e talvolta l'impronta della medesima, lasciata sulla piastra calcarea, siccome fossile scolpito sulla roccia. Le piastre calcaree sono rotonde, ovali spesso irregolari, giallognole, o bianco-argentee, costituit da laminette sovrapposte, ovvero da più zone concentriche,

quasi tutte striate da sottili fili e bastoncini. Oltre le piastre calcaree, contenenti gli elementi del fungo, più volte mi venne fatto di scorgere sulle masse attiniche, o aderenti al contorno delle medesime, *globi calcarei* di forma ovale, o elittica, assai lucenti, che per la pressione fatta su di essi dal coprioggetti, presentano parecchie fratture in direzioni diverse (vedi fig. 5ª). In altri preparati trovai qualche *aggregato di actinomyces* in rapporto con *dischetti calcarei*, elegantemente costituiti da strati concentrici e finamente striati. Questi, sia per il loro aspetto bianco-argenteo caratteristico, sia per la loro fina striatura, sia per la loro figura piatta, sia, da ultimo, per la mancanza delle clave, possono facilmente distinguersi dalle *masse attiniche calcificate*.

Parimenti con sufficiente chiarezza si può vedere, qualche rara volta, il fungo, quando un frammento di concrezione venga d'un tratto schiacciato sotto il coprioggetti, e rischiarato alquanto dalla glicerina cloridrica; allora le *masse attiniche* appaiono molto nettamente nei loro contorni, circondate da un alone chiaro, dovuto al distacco della sostanza calcarea, entro cui erano imprigionate. La figura 1ª. ci rappresenta un piccolo *aggregato*, costituito da tre forme raggiate, nelle quali si può osservare non solo questa particolarità di giacitura, ma ancora, abbastanza distinta, la loro struttura clavata, quantunque le clave terminali si mostrino alquanto granulose, perchè non del tutto spogliate dall'infiltramento calcareo.

Tutto questo si ottiene da un'incompleta decalcificazione.

Che se invece il processo decalcificatore venga spinto ad un grado assai forte, allora gli *aggregati attinici*, fossilizzati entro la sostanza calcarea, scompaiono, sia frammentandosi in più pezzi di varia figura, rappresentati da cumuli di granuli, in parte opachi, in parte splendenti, attorno ai quali tanno disposti a raggiera conidî claviformi ialini, isolati, o amificati, e sottili fili micelici curvi e biforcati (fig. 3ª *a*, *a'*), ia dissociandosi nelle loro singole forme stellate, le quali si iostrano integre nella loro tipica struttura, sebbene impiccolite è assottigliate nei loro elementi.

Per questi caratteri microscopici, non solo era facile riconoscere l'*actinomyces* nella concrezione salivale suddescritta, ma era dato anche stabilire la grande resistenza *morfologica* che talora offre il fungo al processo di calcificazione.

È pur vero che in qualche preparato (non bene riuscito) potevasi rimanere dubbiosi sulla presenza di esso entro le piastre calcaree, nel centro delle quali si vedevano per trasparenza forme raggiate, o stellate, non sempre caratteristiche dell'*actinomyces;* ma davanti a certi altri preparati microscopici, dai quali trassi disegni, che figurano nell'annessa tavola, qualunque occhio, mediocremente esercitato in siffatte ricerche, non avrebbe per un momento esitato a riconoscere la presenza del fungo.

Nè si poteva cadere in errore alla vista di alcune *forme cristalline stellate*, che di sovente apparivano nei preparati microscopici allo sciogliersi dei granuli calcarei, poichè era troppo facile il distinguerle dalle masse attiniche, sia per la figura speciale dei cristalli (aghiformi), sia per la loro maggiore lucentezza e trasparenza, sia per la mancanza delle vere clave terminali, sia finalmente per la loro evanescenza sotto l'azione di alcuni solventi (soluzione concentrata di potassa caustica).

Piuttosto era d'uopo fare un po' d'attenzione, allorchè si prolungava di troppo la decalcificazione; poichè allora si formavano qua e là cumuli granulosi, che alla periferia lasciavano vedere corpicciuoli ovali, allungati, da mentire a prima giunta masse di *actinomyces* (1). Ma la distinzione non ammetteva difficoltà, quante volte si avesse riguardo ai caratteri morfologici di questi *artificiali* prodotti, i quali non presentavano mai nel loro contorno veri bastoncini claviformi riuniti in mazzetti, e fili micelici ramificati, come invece si osserva nella fig. 3ª *aaa.* Di più, con alcuni reagenti, e anche

(1) Potrebbero avere una qualche somiglianza alla fig. 3 della qui annessa tavola, o a quella della tavola del lavoro del Bajardi; ma l'osservazione microscopica esclude l'identità.

colla semplice pressione sul coprioggetto, scomparivano, o cambiavano di forma; il che non si verifica nei conidî clavati dell'actinomyces, disegnati nella fig. 3ª.

Tuttavolta nell'esame di queste concrezioni è d'uopo premunirsi contro il *leptothrix buccalis*, il quale, siccome è noto, può, a seconda della sede in cui si sviluppa, foggiarsi in cumuli di aspetto raggiato, in guisa da portare confusione all'occhio dell'osservatore. Il Bizzozero ricorda nel suo *Manuale di microscopia clinica* di avere trovato sopra alcuni individui (e anche su se stesso) queste masse *lettotricee* con disposizione *raggiata* nei follicoli tonsillari, formanti le ben note concrezioni bianco-giallicce (1). Lo stesso fatto potrei confermare anch'io per queste concrezioni, mentre in quelle dei condotti whartoniani, se pur trovai masse di *leptothrix*, non presentavano mai *parvenze raggiate* (2). Ma, dopo tutto, quanta differenza tra le masse *lettotricee* e quelle *attiniche*. Le *prime* sono sottili, piatte, mancanti di vere clave terminali, sia nel centro, sia nella periferia, e soltanto coperte qua e là da cumuli di granuli e da micrococchi; le *seconde* invece sono più spesse, più regolari, hanno una superficie un po' convessa, e mostrano sempre, sia di fronte, sia di piatto, conidî claviformi caratteristici, che dal centro vanno gradatamente aumentando di volume alla periferia, come ho riscontrato nella concrezione *whartoniana* suddescritta. Nelle *prime* i filamenti, benchè talvolta disposti a *raggiera*, sono sempre fascicolati, un po' ondulosi, dotati di margini assai distinti, mai ramificati, e mostrano solo apparenti biforcazioni; nelle *seconde* invece, i fili micelici sono più sottili, disposti a rete, evidentemente *bifor-*

(1) Bizzozero, « Manuale di microscopia clinica », Terza edizione, pag. 164.

(2) Ho sott'occhio una donna che presenta di tanto in tanto lo sviluppo piccole masse giallognole e vere concrezioni dure nei follicoli delle sille, che facilmente si possono cacciare fuori mercè una pressione ıbinata, esterna ed interna. L'inferma sopporta benissimo questa mara, e di essa conservo ancora entro un tubetto tre concrezioni, costi-ıe da masse di *leptothrix* in disposizione raggiata, cellule epiteliali, umuli di micrococchi.

cati, e terminanti, come dissi, a guisa di rampinetto. Siffatte differenze sono abbastanza eloquenti di per sè; nè era possibile fare una simile confusione nella concrezione, da me studiata, avendo in essa trovato esemplari caratteristici di *aggregati attinici*, non già in un solo, ma in parecchi preparati microscopici. E se ho insistito alquanto su di esse, fu solo, perchè nell'esame dell'actinomyces, caduto in degenerazione calcarea, s'incontrano non raramente *forme atipiche* del fungo, per le quali è d'uopo andare molto cauti nel giudizio diagnostico.

E tali cautele non saranno mai soverchie quando si vorrà differenziare l'*actinomyces* dallo *streptothrix F.*, inquantochè, come dissi più sopra, i caratteri morfologici dei soli fili micelici per la loro somiglianza, non potrebbero essere tolti a criterio diagnostico differenziale. E più ancora crescono le difficoltà, quando si tratti di riconoscere e distinguere questi due microparassiti nelle masse calcaree, ove l'actinomyces potrebbe avere subìto tali modificazioni nei suoi conidî claviformi da vestire le speciali parvenze dello *streptothrix*. In una parola, le *forme atipiche* e incompletamente sviluppate dell'*actinomyces*, come non raramente s'incontrano, sia nell'uomo, sia negli animali, potrebbero in alcuni momenti essere confuse colle masse di *streptothrix F.*

Però nell'esame microscopico della concrezione sopradescritta ho potuto eliminare con tutta sicurezza anche questa confusione, avendovi riscontrato la struttura tipica del fungo nel suo pieno sviluppo, sia sotto forma di piccole *masse raggiate*, sia sotto quella di *aggregati attinici* (fig. 1ª e 4ª).

Pertanto dalle risultanze delle indagini microscopiche, qui sopradescritte, si può senz'altro affermare, che l'*actinomyces sia da considerarsi come la vera ed unica causa della concrezione salivale, e non già come elemento accidentale, c involto nella formazione della medesima.* In prova di ci basta tenere conto del numero notevole di forme raggiate di aggregati attinici, trovati nella concrezione sopramentova basta pensare che il fungo si rinvenne in più punti, os

tanto nel centro che alla periferia della massa calcarea, per stabilire che solo ad esso devesi lo sviluppo della concrezione stessa. Ma sopratutto è la *speciale proprietà calcificante* del fungo, che ci deve far ritenere la concrezione come suo legittimo prodotto; proprietà calcificante che il fungo, o possiede primitivamente, o riceve a contatto di alcuni tessuti, o sotto certe condizioni; per cui si potrebbe dire che qui non si tratti di una concrezione vera e propria, ma dell'actinomyces stesso calcificato entro i condotti whartoniani.

Che se la presenza di questo microfito entro i condotti di Wharton non desta alcuna sorpresa, può invece recare meraviglia la *circoscrizione di sede* del medesimo. Infatti, tranne che nella detta concrezione calcarea, in nessun altro punto della cavità orale, e nemmeno nelle regioni prossime si sviluppò l'attinomicosi. Il che mentre ci assicura che la bocca offre la possibilità d'una invasione attinica per i *condotti salivali*, d'altra parte ci dimostra che deve riuscire assai difficile per queste vie lo sviluppo del fungo *in situ* e la sua diffusione in altre regioni.

Di questo fatto dobbiamo cercare le ragioni nella rapida degenerazione calcarea la quale, siccome è noto, arresta la rigogliosa proliferazione dell'actinomyces e ne impedisce ogni ulteriore invasione dalla sede primitiva in sedi più lontane.

Parlano in favore di questo arresto nella vita e nella propagazione del fungo le ricerche dello Ione, per le quali si è dimostrato che nei suini trovasi molto spesso l'*actinomyces* entro i follicoli tonsillari, mentre in essi è raro lo sviluppo di grossi attinomicomi, quali si producono nei bovini. E questa specie di *immunità* dei suini per l'attinomicosi devesi, secondo l'avviso del citato ricercatore, alla precoce calcificazione, a cui va soggetto il fungo entro i follicoli e nelle tasche delle ·sille di questi animali.

a stessa analogia di limitazione di processo, avente un ri- ntro con quella dei *condotti whartoniani*, si può trovare fatti, raccolti da Reymond e da Perroncito intorno · concrezioni dei *canalicoli lacrimali*, fuori dei quali non

si sviluppò alcuna lesione *attinica*, come si rileva dal lavoro del Bajardi. In altre manifestazioni ancora del processo attinico, fu trovato il fungo in scarsa quantità per la invadente infiltrazione calcarea, e corrispondentemente si vide anche la lesione molto circoscritta (1).

A mio avviso, la *degenerazione calcarea* del fungo, e conseguentemente la *circoscrizione topografica* della lesione sono un *prodotto dell'ambiente*, in cui esso fungo perviene. Infatti allorchè è giunto, o in una cavità, o in condotti, rivestiti da vari strati di epitelî pavimentosi, questi non solo fanno barriera alla sua progressione, ma, per lo stimolo che ne ricevono, dànno luogo ad una abbondante desquamazione, avvolgente siffattamente il microparassita, da limitarne lo sviluppo e da impedirne la penetrazione nei tessuti sottostanti. Che ciò sia vero lo dimostrano non pochi preparati microscopici nei quali, come ho detto più sopra, si vedono le masse attiniche, contornate da cellule epiteliali piatte, assai aderenti ai fili micelici delle medesime. Appresso a questi prodotti di desquamazione del canale whartoniano, il fungo non può a meno di risentire i danni di una diminuita nutrizione e quindi di uno sviluppo ritardato, o anche spento; ed è forse in questo stato d'*inerzia nutritiva e riproduttiva*, che si ordisce entro la sua trama la infiltrazione di sali calcarei, contenuti nella saliva.

Non così avviene, se l'actinomyces arrivi immediatamente entro il connettivo; poichè allora provoca fatti reattivi manifesti, e si propaga perifericamente con maggiore o minore rapidità, a seconda del grado della sua attività germinativa, e delle condizioni favorevoli dell'ambiente. E se anche qui subisce la metamorfosi calcarea, questa è sempre *secondaria* e assai tardiva, cioè, successiva ai fenomeni irritativi da esso provocati, e verificantesi allorchè in un punto, d'ordinari centrale, della massa granulomatosa, il fungo risenta un

(1) In un caso di dermo-attinomicosi in forma lupoide, il fungo era i preda ad una avanzata calcificazione, e il processo si mantenne in *limi ristretti*.

pressione continua e progressiva, non propizia alla sua nutrizione e a quella del tessuto circostante. Di che ho potuto avere qualche esempio in alcuni prodotti abortivi di attinomicosi, ottenuti mercè innesto del fungo fresco sotto la cute dei conigli. Dopo alcune settimane, nei punti d'innesto, trovai in un coniglio (dei molti inoculati) tre o quattro nodi pisiformi duri, che, escisi ed esaminati col microscopio, contenevano masse raggiate del fungo calcificato, come si poteva riconoscere dal solo scricchiolio nell'atto di tagliarli. Talvolta rinvenni nella sostanza di questi noduli granuletti calcarei, che, schiacciati ed opportunamente trattati, facevano vedere *aggregati attinici* ancora ben visibili col microscopio. In questo caso mi sembrò evidente la cagione di questa metamorfosi calcarea dell'actinomyces, cagione, che io riposi nell'affievolita, o estinta attività proliferante del fungo, per la quale esso venne come sopraffatto dal processo reattivo e quindi invaso da sali di calce.

E riassumendo brevemente questo concetto fondamentale, riguardante la *evoluzione* e involuzione dell'actinomyces si potrebbe stabilire *che l'arresto di sviluppo del medesimo e la sua circoscrizione topografica stanno in rapporto col grado e colla celerità maggiore o minore della degenerazione calcarea, da cui viene colpito, o che esso stesso provoca.*

Dopo ciò, tornando alle concrezioni dei condotti salivali, io, senza escludere l'influenza del processo infiammatorio della mucosa, e tutte le altre cause meccaniche, chimiche..., ammesse dagli autori, inclino a ritenere anche per alcune di esse la *genesi parassitaria*, come avrebbero dimostrato pachi ricercatori, dal Graefe al Bajardi, per quelle dei caicoli lacrimali, e come credo di avere provato io per quella ramentovata.

assai verosimile che i microparassiti (specie alcuni) racri ed ammassati entro i condotti escretori delle ghiandole

salivali, oltre l'azione irritante sulle loro pareti, oltre l'azione meccanica, favorevole al deposito dei sali calcarei, abbiano ancora ad esercitare un'azione chimica, mercè la quale valgano a separare dagli elementi cellulari, e sopratutto dai prodotti di secrezione, *carbonati*, *fosfati*, *ossalati* in essi contenuti, provocando così la formazione di vere concrezioni.

Dei tre microrganismi sopradescritti l'actinomyces è quello che più si distingue per la facile metamorfosi calcarea, frequentissima a verificarsi negli *attinomicomi* mandibolari dei bovini, nei quali talvolta il processo di calcificazione è tanto esteso, da trasformare quei tumori in masse di aspetto *gessoso;* donde il loro nome volgare di *mal del gesso.*

Per questa singolare proprietà calcificatrice, o ingenita, o acquisita, l'actinomyces deve oggidì entrare a spiegarci la etiologia di molte concrezioni, di cui un altro bell'esempio, ci viene porto da quella sopradescritta e da me trovata nel condotto whartoniano.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1ª. — Granellino della concrezione suddetta, schiacciato e chiarificato alquanto mercè glicerina cloridrica. Notasi un aggregato attinico costituito da tre masse raggiate, staccatesi nettamente dalla sostanza calcarea circostante, come appare dall'alone chiaro periferico. Le clave terminali delle masse raggiate si mostrano in gran parte granulose.

Fig. 2ª. — Massa raggiata semilunare, costituita nel centro da spore clavate e alla periferia da fili sottilissimi, circondata da sostanza calcarea e infiltrata da sali di calce. I fili con disposizione radiata penetrano nella massa calcarea e si vedono per trasparenza.

Fig. 3ª. — Due piccoli cespugli *a*, *a'* di actinomyces ottenuti, dopo prolungata decalcificazione, dalla sostanza della concrezione. Le clave si mostrano jaline e i filamenti micelici evidentissimi.

Fig. 4ª. — Tre forme stellate di actinomyces di varia grandezza assai ben conservate, una delle quali è circondata da cellule piatte, dovi alla desquamazione degli epiteli del condotto Whartoniano.

Fig. 5ª. — Piccolo aggregato di actinomyces, ricoperto in gran pa da dischi e globi calcarei assai splendenti e fenduti in varia di zione. Le piccole masse raggiate, costituenti l'aggregato attinic sono abbastanza evidenti verso la periferia.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 16.

RICERCHE SPERIMENTALI SUL COLERA

(MASSAUA)

PEL

Dott. **Livio VINCENZI**

Prof. di Patologia Generale nell'Università di Sassari.

I risultati che sto per riferire sono assai differenti da quelli comunicati all'Accademia Medica di Roma coi miei lavori « Ricerche sperimentali col bacillo virgola del Koch » nel 1887-1888. Quanto esposi allora, scaturiva da una lunga serie di esperimenti eseguiti con colture provenienti dalle epidemie di Trieste, Parigi, Finthen. Ora le mie ricerche vennero fatte con colture, che gentilmente mi furono spedite dall'Istituto di Igiene dell'Università di Roma, e che erano state ricevute da Massaua lo scorso settembre dal Dott. Pasquale.

Non credo necessario di riassumere quanto esposi nei miei succitati lavori, solo ricorderò come non fossi mai riuscito a provocare l'intossicazione colerica nelle cavie senza prima irritare o meccanicamente o chimicamente l'intestino.

Le prime ricerche che istituii col bacillo virgola isolato a Massaua mi sorpresero talmente, che subito scrissi al Chiarissimo Prof. Celli, perchè me ne fosse spedita una nuova coltura. L'ebbi e confermai con essa quanto con mia somma ma-·iglia avevo constatato con la prima.

:on una minima quantità di coltura di colera o cresciuta brodo o in agar si provocava nelle cavie per inoculazione tocutanea un edema acuto, notevolissimo, poi i fenomeni ·atteristici dell'intossicazione colerica, e la morte in meno

di 24 ore. All'inoculazione di poche gocce di coltura sia nel cavo addominale, sia nel cavo pleurico susseguiva senza fallo la morte in breve tempo. Un'ansa di coltura cresciuta in agar era sufficiente ad uccidere un piccione in meno di 20 ore, quando la si introduceva entro i muscoli pettorali. In un coniglio che ricevette nell'addome due centimetri cubici di una coltura in agar sciolta in brodo si ebbe la morte nello stesso giorno.

Questi fatti erano così diversi da quelli ottenuti con colture di colera di altra provenienza, che io ebbi il dubbio o che si trattasse di una varietà di bacillo virgola o del vibrio descritto dal Gamaleia.

Quali erano pertanto i criterî sui quali potevo fondarmi per dissipare i miei dubbi? Feci numerosi confronti con colture del vibrio di Gamaleia e con colture di colera di Finthen.

Per ciò che si riferisce al vibrio Metschnikowii debbo dire che ad onta di quanto scrisse in proposito Pfeiffer (1), sono persuaso che anche un provetto batteriologo mal saprebbe distinguerlo nelle colture su lastra dal bacillo virgola del Koch. Dal lato patogenico, quando io avessi avuto a che fare con colture innocue pei piccioni, la differenza sarebbe stata ovvia; ma anche questo criterio mi mancava. I piccioni difatti morivano colle stesse alterazioni che col vibrio; e nell'un caso e nell'altro numerosi erano i bacilli e nel sangue e nel contenuto intestinale. Pensai allora di servirmi degli interessanti risultati ottenuti da Behring e Nissen (2) collo siero del sangue delle cavie. Niente di più facile, io mi diceva, che constatare la morte dei bacilli virgola del colera in quello siero ove invece a dismisura si moltiplicano i vibrioni di Gamaleia. Ma anche questo criterio differenziale fallì; ed è questo un fatto su cui richiamo l'attenzione. « I bacilli

(1) « Ueber den Vibrio Metschnikoff und sein Verhältniss zur Cholera asiatica ». R. Pfeiffer, *Zeitsch. f. Hygiene*, Bd. VII, S. 347.

(2) Behring e F. Nissen, « Ueber bacterienfeindliche Eigenschaften verschiedener Blutserumarten » (*Zeitschr. für Hygiene*, Bd. 8, Heft II S. 429).

del colera di Massaua così virulenti, così estremamente micidiali non muoiono nello siero delle cavie sane, anzi vi si moltiplicano ».

Tentai di mettere in evidenza la reazione del cholera-roth; ma mentre mi persuasi che le colture di vibrio per quanto giovani assumevano sempre un color rosso chiaro o rosso mattone, quelle del bacillo virgola da me sperimentato non mi dettero mai risultati positivi.

A questo proposito Pasquale scrive (1):

« Riguardo poi alla reazione del cholera-roth di Bujwid e Dunham, che ho qui sperimentato su vasta scala, ho dovuto constatare quanto segue:

« 1° Quando il colera si trova in mescolanza con altri microrganismi non solo delle feci, ma anche dell'acqua, spesso *essa manca;*

« 2° Inoltre manca talvolta quando la si esperimenta su colture pure di colera, sopratutto se siano molto giovani; almeno io con colture di 20 ore in brodo diluito *non sempre* sono riuscito ad ottenerla, laddove in precedenti generazioni essa si era mostrata o viceversa;

« 3° Col Metschnikoff non è mai mancata, è stata sempre pronta e più spiccata, anche quando le colture erano giovanissime, di 14 ore appena », ecc.

Come si vede, quanto ebbi a constatare nelle colture a me inviate corrisponde alle osservazioni fatte da chi per primo le studiò.

Trovata una differenza così spiccata fra il vibrio colerigeno di Massaua e quello del Gamaleia, passai ad uno studio di confronto con colture di colera di Finthen. E giacchè ho ricordato la reazione del *colera roth*, dirò subito che in queste la comparsa di un color rosso-ciliegia coll'aggiunta di poche gocce di acido solforico, non mancò mai, sebbene si verificasse

---

(1) Alessandro Pasquale, « Ricerche bacteriologiche sul colera e considerazioni igieniche » (*Giorn. Med. del R. Esercito e della R. Marina,* 1891).

più tardi che nelle colture col vibrio M. Ma le differenze maggiori le trovai nelle qualità patogeniche; sicchè mentre potei di nuovo constatare i fatti esposti nel mio primo lavoro del 1887, mai riuscii per quanti tentativi facessi nè ad uccidere piccioni, nè a provocare edemi sierosi o siero-ematici coll'introduzione sottocutanea nelle cavie di notevoli quantità di colture.

Se adunque il bacillo virgola isolato da Pasquale a Massaua si comportava così diversamente dai bacilli isolati nelle epidemie di Trieste, di Parigi e di Finthen, doveva pensarsi o ad una varietà nuova di microrganismo patogeno, oppure ad una virulenza straordinaria ad esso collegata.

Gamaleia in una comunicazione fatta da Pasteur all'Accademia delle Scienze a Parigi enunciò (1) di esser riuscito a dare ai bacilli virgola del Koch una virulenza estrema passandoli dalle cavie nei piccioni. Se a Pfeiffer e al Nocht (2), come pure a me in ripetuti tentativi non capitò mai di ottenere tale risultato, non si può per questo infirmare quanto il Gamaleia asserì. Sta di fatto pertanto che come Gamaleia ha potuto uccidere i piccioni col bacillo virgola del colera, io sono riuscito a fare altrettanto con minime quantità di coltura del microrganismo isolato da Pasquale. Aggiungerò anzi come abbia potuto accertarmi che nel passaggio nei piccioni i bacilli acquistano una rapidità maggiore di sviluppo, e se ne aumenta la loro virulenza.

Per questo accordo fra i miei risultati e quelli di Gamaleia, sebbene in altro modo ottenuti, io ritengo che il vibrio di Pasquale sia appunto da considerarsi come un bacillo del colera virulentissimo, e non una varietà distinta. Però chi volesse generalizzare gli effetti che si provocano con le colture di detto bacillo, a quelli che si ottengono o si ottennero

---

(1) **Gamaleia**, Communication faite à l'Académie des sciences p M. Pasteur dans la séance du 20 août 1888.

(2) **Pfeiffer-Nocht**, « Ueber das Verhalten der Choleravibrionen Taubenkörper » (*Zeitschr. f. Hygiene*, VII, S. 259).

con infinite altre colture di differenti provenienze, farebbe certo un errore grossolano.

Nel corso delle mie esperienze sono stati pubblicati diversi lavori sul colera, fra i quali meritano di essere ricordati quello di Pfeiffer e quello recentissimo di Brieger, Kitasato e Wassermann.

Pfeiffer che in un lavoro assieme al Nocht, poi in un altro da solo pubblicato (1) aveva cercato di dimostrare il nessun rapporto fra il vibrio di Gamaleia e il bacillo del colera, in un nuovo opuscolo (2) sul veleno colerico, dopo aver scritto che a queste ricerche è stato condotto dalle analogie colle sostanze tossiche ritrovate nel vibrio M., comincia:

« Als wichtigstes Resultat schicke ich die Thatsache voraus, dass Meerschweinchen mit verschwindend geringen Mengen lebender Cholerabacterien bei intraperitonealer Injection getödtet werden können ».

Questa proposizione sorprende certo quanti si sono finora occupati della patogenesi del colera. Pfeiffer per la parte bibliografica si limita a ricordare Nicati, Rietsch, Hüppe; lascia in disparte Koch, che come scrive Gamaleia (3) nel suo ultimo lavoro sul colera già nel 1885 era « arrivé à obtenir des cultures assez toxiques pour pouvoir produire chez les animaux par injection sous-cutanée ou *intrapéritonéale* une faiblesse paralytique, l'algidité et la mort ». Naturalmente poi non si occupa punto di coloro che ottennero risultati negativi colle iniezioni intraperitoneali, e ciò io credo pel fatto semplicissimo, che come risulta chiaro da altri lavori di Pfeiffer sul colera, ogni qual volta egli aveva voluto provare la virulenza di colture del bacillo virgola, non si era

---

(1) Pfeiffer R. « Ueber den Vibrio Metschnikoff und sein Verhältniss ır Cholera asiatica » (*Zeitschr. f. Hygiene*, Bd. VII, S. 347).

(2) Pfeiffer R. « Untersuchungen über das Choleragift » (*Zeitschrift Hygiene und Infectionskrankheiten*, Bd. 11, H. III, S. 393).

(3) Gamaleia, « Recherches expérimentales sur les poisons du cho- ra » (*Arch. de Méd. expér. et d'anat. pathol.* Charcot, 4[me] année, 2, pag. 173).

fidato delle iniezioni endo-addominali, ma aveva seguito il metodo della previa alcalinizzazione dello stomaco, successiva introduzione di parecchi centimetri cubici di coltura nell'apparecchio digestivo e iniezione di tintura d'oppio nel ventre delle cavie.

Ora quali sono i motivi della proposizione di Pfeiffer? Le esperienze vennero eseguite con colture di colera ricevute dal Dott. Pasquale da Massaua; con colture quindi virulenti tanto da uccidere, come io trovai, con quantità davvero microscopiche in 12-20 ore qualunque piccione. Veramente Pfeiffer scrive d'avere ottenuto gli stessi fatti con una coltura di colera assai vecchia e col vibrio di Finkler; ma anche aggiungendo alle colture del colera di Massaua, quelle ad es. ottenute dal Gamaleia col passaggio dei bacilli nei piccioni, e qualche altra, non ammetto assolutamente si possano generalizzare i risultati ottenuti a tutte le colture di colera finora ben studiate, e scrupolosamente esperimentate.

Dal lavoro di Brieger, Kitasato e Wassermann (1) risulta che le colture adoperate (Massaua) erano appunto di un'estrema virulenza, quali quelle da me studiate. Però nè in questo lavoro, nè in quello di Pfeiffer si parla dei fenomeni che susseguono all'iniezione sottocutanea nelle cavie, e si tace sugli effetti di dette colture nei piccioni.

Le esperienze da me fatte sono state numerose ed hanno dati risultati diversi da quelli enunciati da Pfeiffer.

Introducendo una minima quantità di coltura di colera (Massaua) sottocute alle cavie, si provoca un edema siero-ematico notevolissimo. Si tratta di una filtrazione di plasma sanguigno, come ho veduto provocarsi col micrococco da me isolato in due casi di pustola con linfangioite (2) e nel quale i leucociti sono veramente *rari nantes*. Man mano che l'edema

---

(1) Brieger, Kitasato e Wassermann, « Ueber Immunität und Giftfestigung » (*Zeitschr. f. Hygiene, etc.*, Bd. 12, H. 2, S. 158).

(2) Vincenzi, « Due casi di pustola con linfangioite da un micrococco patogeno » (*Boll. della R. Accademia Med. di Roma*, Anno XVII 1890-91, fasc. IV).

aumenta l'animale grida pel dolore; al minimo contatto il dolore si esacerba. Dopo poche ore la temperatura comincia ad abbassarsi; la cavia ha il pelo arruffato, respiro affannoso ed eccitata si muove lentamente barcollando. La morte avviene sempre entro le 24 ore.

Le colture fatte coll'edema e col sangue sono riuscite in ogni caso positive. Scarse colonie si ebbero dal contenuto del tenue ma non mancarono mai.

La inoculazione nell'addome di poche gocce di coltura in brodo o di una minima quantità di coltura in agar sospesa in brodo, è susseguita dopo 3-4 ore da una dolorabilità eccessiva di tutto il ventre. Cercando di sollevare l'animale, esso grida disperatamente, si contorce e talora cade in preda a contrazioni muscolari violente. L'addome si fa duro, voluminoso; la temperatura si abbassa, il respiro diviene superficiale e la morte si verifica dopo 8-12 ore.

All'autopsia trovasi che nel cavo addominale è sempre contenuto un essudato sieroso abbondante; i vasi del peritoneo fortemente congesti, talora con emorragie puntiformi. Stomaco e intestino tenue iperemici; quest'ultimo nel suo tratto superiore quasi sempre con contenuto liquido, giallastro.

Dall'essudato peritoneale si ottennero sempre colture abbondantissime di bacillo virgola; nè mai riuscirono sterili quelle del sangue. Dal contenuto del tenue solo in due casi riuscii ad ottenere un discreto numero di colonie.

Coll'inoculazione nel cavo pleurico si provoca un trasudamento notevole di siero dal lato operato; la morte col solito forte abbassamento della temperatura avviene in 8-10 ore. Anche in questi casi il sangue dà costantemente colture di bacilli virgola.

Ho tentato di produrre l'infezione nutrendo gli animali con ›molino e colture di colera, però senza risultato. Invece uando le cavie avevano introdotto una certa quantità di colıre col cibo e ho irritato l'intestino (dopo 4-6 ore) sia colla ntura d'oppio, che coll'alcool, ecc. ho ottenuto senza eccezione la morte degli animali. In questi casi ho avuto uno

scarso sviluppo di colonie dal contenuto del tenue, *mai* risultati positivi dal sangue.

Pfeiffer nel lavoro su citato, a proposito delle iniezioni fatte nell'addome delle cavie, scrive di non avere mai trovato i bacilli del colera nel contenuto intestinale, e in soli 2-3 casi nei quali dall'essudato peritoneale era riuscito a ottenere numerose colonie, trovò pure in piccola quantità bacilli nel sangue.

Ora per quali motivi ha Pfeiffer solo eccezionalmente trovato nel sangue degli animali i vibrioni colerigeni, mentre a me sempre riuscì di ottenere colture numerose?

Non so se Pfeiffer abbia ripetute le esperienze di Behring e Nissen per persuadersi se anche i bacilli delle colture provenienti da Massaua sieno distrutti così energicamente dallo siero delle cavie sane. Come scrissi più sopra, ho potuto persuadermi che le colture da me adoperate si comportano in modo affatto diverso. Può darsi che i bacilli virgola sperimentati da Pfeiffer fossero nel numero maggiore delle iniezioni fatte, meno virulenti e quindi più facilmente distrutti nel sangue. Ho fatto più volte delle esperienze comparative sia col vibrio M. che col bacillo del colera di Finthen. Però, mentre ad es. quest'ultimo non ha mai dato risultato positivo anche solo dopo 2 ore dall'inoculazione nello siero, quello di Massaua già dopo 4 ore dava sviluppo a numerose colonie. È questo un fatto della massima importanza, giacchè mostra che la resistenza dei micro-organismi all'azione battericida del sangue è ben diversa a seconda della loro virulenza.

Una domanda che viene spontanea dopo quanto riferì, è la seguente: Con le colture di colera di Massaua si provoca negli animali una infezione, una setticemia o la morte avviene pel veleno colerico nel senso di Pfeiffer?

Per ciò che avviene nei piccioni non vi ha dubbio che tra-
tasi di infezione. All'inoculazione di una minima quantità [illegible]
bacilli entro i muscoli pettorali tien dietro un edema notevol
uno scoloramento delle fibre, che facilmente si disgregano.
liquido dell'edema è gremito di bacilli virgola; numerosi

trovano pure nel sangue e costantemente nel contenuto intestinale.

Nelle cavie pullulano i bacilli nell'edema sottocutaneo, però e nel sangue e nell'intestino sebbene sempre vi si trovino, non azzarderei dire che vi si verifichi una moltiplicazione. E neanco quando l'inoculazione si fa nel peritoneo, può asseverarsi altrettanto, giacchè i fenomeni sono evidentemente prima localizzati al ventre.

Se coi bacilli così virulenti delle colture da me sperimentate si provoca una vera infezione, ciò non contraddice quanto trovò Pfeiffer; difatti i prodotti che vanno uniti o fanno parte integrale dei bacilli uccisi o col cloroformio o coll'essiccamento, ecc., possono ben essere *patogeni* per gli animali. Vuol dire che mentre in certi casi infezione e intossicazione non vanno disgiunte l'una dall'altra; in alcuni invece per la minore resistenza forse dei microrganismi introdotti all'azione distruttrice del sangue, la morte si verifica per vera e semplice intossicazione.

Ho eseguito una serie di ricerche nell'intento di conferire l'immunità al colera sia ai piccioni che alle cavie.

Gamaleia nella comunicazione fatta all'Accademia delle Scienze di Parigi il 20 agosto 1888, scriveva:

« Nous avons inoculé un pigeon deux fois avec une culture ordinaire (non virulente) du choléra; la première fois dans les muscles pectoraux; la seconde fois dans la cavité abdominale. Ce pigeon est devenu réfractaire à l'infection réitéré par le virus le plus virulent ».

I miei tentativi colle colture di colera di Finthen sono stati invece infruttuosi e nelle cavie e nei piccioni. Un pic-
one ad es. che era stato inoculato tre volte in giorni alterni
on 3 cc. di coltura in brodo nei muscoli pettorali, poi con
cc. nell'addome, per l'iniezione di una piccola ansa di col-
ıra di colera di Massaua cresciuta in agar (24 ore) e sciolta
ı brodo e iniettato al petto, morì in 10 ore. Così una grossa

cavia che ricevette nell'addome prima due centimetri cubici di coltura (**Finthen**) in brodo, poi dopo due giorni un'intera coltura in agar sciolta, e che per questa seconda iniezione stette male dal pomeriggio al mattino successivo (credo più per l'irritazione del peritoneo che per intossicazione nel senso di **Pfeiffer**) venne dopo due giorni inoculata nell'addome con un'ansa di coltura in agar di colera di Massaua sciolta in brodo. Ebbene l'iniezione si fece alle 8 del mattino e la morte coi soliti fenomeni si verificò alle 5.

Risultati favorevoli ottenni invece iniettando le colture riscaldate sia a 65°, che portate per 1/2 ora a 120°. Però anche limitandosi a fare iniezioni di piccole quantità talora gli animali muoiono o stanno male per 24 e più ore.

Il modo più semplice e senza fallo positivo è quello di inoculare gli animali con colture cresciute in brodo e filtrate col filtro Kitasato.

Il liquido che si ottiene può essere iniettato anche in grande quantità (fino a 1 cc. per ogni 100 gr. di peso) senza che mai si verifichino disturbi gravi. L'immunità compare prestissimo; già dopo 24 ore spesso gli animali resistono a dosi ben più forti di quelle che uccidono le cavie non preparate in poche ore. Ad es. una cavia che aveva ricevuto 2 cc. di coltura filtrata nell'addome (la coltura era di 48 ore), dopo 24 ore venne inoculata con due anse di coltura in agar, poi sciolta in brodo. Mentre in una cavia di controllo con un'ansa di coltura si ebbe la morte in 7 ore, nell'altra non si verificò il menomo disturbo. Il giorno successivo adoperai 4 anse, ma furono senza effetto; dopo 48 ore iniettai quasi un'intiera coltura di colera cresciuta in agar e ottenni la morte coi fenomeni soliti in 11 ore.

Non ho trovato differenze notevoli adoperando piuttosto colture giovani (di 48 ore) o colture vecchie (12-20 giorni); ad ogni modo meglio corrisposero le prime.

Due fatti importanti ho potuto verificare negli animali resi immuni. Lo siero acquista il potere di uccidere i bacilli virgola e le iniezioni sottocutanee invece di essere seguite dal-

l'infiltrazione edematosa con pochissimi leucociti, dànno luogo ad un'infiammazione edematosa con rapida e imponente fagocitosi. Quanto scrisse Metschnikoff (1) a proposito dell'immunità delle cavie vaccinate contro il vibrio si ripete esattamente nelle esperienze da me fatte negli animali resi immuni al bacillo virgola del colera (Massaua). La fagocitosi nelle mie cavie immunizzate è un fatto così caratteristico e costante, che basta di quando in quando di inocularle sotto cute con una piccola quantità di coltura virulentissima per dedurre dalla mancanza della fagocitosi e dal comparire dell'edema la cessata immunità.

Non conviene credere che i bacilli virgola vengano distrutti in breve tempo dai fagociti; ho ottenuito ad es. due colonie di colera su lastra da una goccia d'essudato raccolta dopo 5 giorni dall'innesto sottocutaneo.

Tanto nei lavori di Gamaleia, come nell'ultimo pubblicato da Brieger Kitasato Wassermann nè si parla di immunità ottenuta col semplice filtrato di colture di colera in brodo e non riscaldate, nè si scrive d'aver tentato di immunizzare gli animali con lo siero dei vaccinati.

Ad una cavia che aveva ricevuto in 5 volte e in 7 giorni 24 cc. di filtrato di colture in brodo (48 ore a 3 giorni) tolgo il sangue, raccolgo lo siero e ne inietto in 3 volte nello spazio di tre giorni 5 cc. nel cavo addominale di una cavia del peso di 696 grammi. Dopo 48 ore dall'ultima iniezione la inoculo sottocute con 5 gocce di una coltura virulentissima (7° passaggio nel piccione). Nello stesso tempo si inocula con due gocce una cavia dello stesso peso e per via sottocutanea. Questa presenta un edema notevolissimo e muore dopo 8 ore; nella prima invece non si ha che una limitata infiammazione con evidente fagocitosi.

---

(1) Metschnikoff, « Étude sur l'immunité » (4e Mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur*, V année, t. V, pag. 465).

In altra cavia si iniettano nell'addome 2 cc. di siero proveniente da una cavia che aveva ricevuto 6 cc. di filtrato e che si era mostrata immune all'inoculazione di notevole quantità di bacilli sottocute. Dopo 24 ore si inocula con due anse di coltura in agar (20 ore) sciolta in brodo, introducendola nell'addome. La cavia dopo circa 3 ore ha il pelo arruffato, non mangia, se ne sta ferma in un angolo della gabbia. Il mattino seguente (l'inoculazione fu fatta alle 4 pom.) era perfettamente ristabilita.

Quale debba essere la quantità di siero in rapporto al peso dell'animale, per renderlo certamente immune, e se il grado di immunità conferita, stia in relazione alla maggiore o minore dose di filtrato iniettato nell'animale da cui si toglie il sangue, per ora non posso dire.

Gli esperimenti fatti mi lasciano credere però che l'immunità conferita collo siero delle cavie vaccinate duri pochissimo tempo.

Nei piccioni non ho fatto esperienze in proposito: solo ho veduto che coll'inoculazione di filtrato di colera acquistano l'immunità prestissimo.

Ho tentato di provare se acquistata l'immunità pel bacillo virgola di Massaua, gli animali fossero anche immuni pel vibrio; ma ho ottenuto risultati negativi. Così in un piccione che era stato immunizzato al colera con 3 cc. di coltura (Massaua) in brodo tenuta per mezz'ora a 120 gradi, e che per 4 giorni non si era potuto reggere sulle zampe, si trovò una resistenza a quantità notevolissime di bacilli virgola assai virulenti. Mentre con ciò che si può raccogliere con una piccola ansa di platino poggiandola su di una coltura in agar si uccideva in 10-15 ore un piccione, l'altro vaccinato aveva resistito ad un'intera coltura di colera. Dopo 5 giorni dall'iniezione fatta (15 dall'introduzione della coltura a 120°) si inocula con 4 gocce di coltura di vibrio in brodo, e la mor. avvenne dopo 12 ore.

Nelle cavie non ho fatto esperienze, però ho visto che nel siero delle cavie rese immuni al bacillo virgola di Massau venivano rapidamente distrutti anche i vibrioni di Metschi koff.

Il modo suindicato di rendere immuni gli animali al colera può avere applicazione nella patologia umana?

Gamaleia nel 1888 dopo avere comunicato gli esperimenti di vaccinazione nei piccioni e nelle cavie scriveva a Pasteur:

« Je vous autorise à déclarer que je suis prêt à répéter toutes mes expériences dans votre laboratoire à Paris. Je m'offre également à trouver sur moi-même la dose inoffensive et suffisante pour la vaccination humaine ».

Brieger, Kitasato, Wassermann, dimostrato che trattando le cavie con colture di colera cresciute in brodo e ghiandola timo, poi portate per 15 minuti a 65°, le si rendono già dopo 24 ore immuni all'intossicazione, scrivono:

« Questa iniezione protettiva ha in certo modo il valore di un'iniezione curativa; giacchè se riesce di proteggere un animale od un uomo ammalato contro il germe patogeno specifico durante la malattia stessa, questa non è più pericolosa per quell'animale o quell'uomo, i quali perciò guariscono. Quindi in un individuo già ammalato iniezione protettiva contro il veleno significa guarigione ».

Io sono persuaso che mentre le ricerche sperimentali sull'immunità hanno fatto molta luce per comprendere dove e in quali sostanze dell'organismo debbano riconoscersi i mezzi di difesa agli agenti infettivi e patogeni, non debbasi però che con grande cautela e solo in quei morbi, nei quali fra animale e uomo vi ha analogia di sintomi e di decorso, applicare i risultati della patologia animale alla umana.

Nota. — Gli stessi risultati ottenuti con le colture ricevute dall'Istituto d'Igiene di Roma si ebbero con una coltura gentilmente inviatami dal Dott. Pasquale; coltura isolata dal Pozzo N. 4 di Ghinda, e che, come egli mi scrisse, è « quella stessa che spedì al Koch, e sulla quale lavorarono Pfeiffer e Kitasato ».

Sassari, li 24 aprile 1892.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 17.

RICERCHE SPERIMENTALI SUL TETANO

NOTA

DEL

Dott. **Livio VINCENZI**

Prof. di Patologia Generale nell'Università di Sassari.

Le ricerche sperimentali sul tetano sono di data così recente che non credo necessario di riassumere quanto in proposito fu pubblicato. L'indirizzo poi tenuto nei miei studi è così diverso da quello seguito da quanti si occuparono di tale argomento, che mi dispensa da citazioni di nomi e di lavori.

Punto di partenza per le mie osservazioni è stato il fatto, dapprima accertato dal Sormani, che gli animali più sensibili al tetano godono di un'assoluta immunità all'infezione stessa quando il materiale tetanigeno venga introdotto nel tubo gastro-enterico. Perchè, mi sono io domandato, possono le colture del tetano attraversare lo stomaco e l'intestino senza arrecare il menomo disturbo?

Non mi arresto a discutere l'opinione di coloro, che hanno scritto come la mucosa gastro-enterica si comporti a guisa della pelle sana, senza lesioni di continuità, giacchè basta pensare alla funzione diversa di questo apparato per rigettare qualsiasi paragone. Del resto lesioni dell'intestino provocate o con agenti chimici, o con agenti fisici riescono senza effetto quando nell'intestino circolano delle enormi quantità di colture virulentissime di tetano.

Si è fatto un confronto delle toxine del tetano coi veleni che impunemente possono essere introdotti nello stomaco; ma mentre tal paragone calza per l'identità dell'effetto finale, non ci dà la spiegazione del fatto in sè.

Una prima ricerca da me tentata fu quella di studiare come si comportavano le feci degli animali, ai quali io avevo somministrato colla sonda esofagea delle quantità notevoli (5-10 cc. in una volta) di colture di tetano filtrate. La scelta di materiale tetanigeno senza bacilli s'imponeva per non cadere nell'errore (Sormani) di voler dedurre la virulenza o meno dei bacilli nelle feci, per l'infezione che con esse può provocarsi in altri animali.

Ho portato nell'intestino delle cavie da 5 fino a 10 cc. di colture di tetano filtrate, che erano così virulenti da uccidere per via sottocutanea con la quinta parte di una goccia, in due giorni al massimo una cavia del peso di oltre 600 grammi. Le feci raccolte a diversi intervalli e appena emesse, si scioglievano in piccole quantità d'acqua, le si passavano attraverso un velo spremendole, e si iniettavano sottocute a topi e cavie. Per quanti tentativi io abbia fatto, non sono mai riuscito a provocare neanche fenomeni tetanici localizzati.

Da questa prima esperienza risultava adunque che le feci degli animali ai quali si sieno somministrate delle quantità davvero enormi di colture di tetano filtrato non sono punto tetanigene.

Che ne fu pertanto delle toxine introdotte? Il primo dubbio che si può avere pensando al modo di comportarsi di certi veleni nel tubo gastro-enterico, è quello che le colture del tetano vengano assorbite in modo da essere poi adagio adagio eliminate dai reni. Ho raccolto l'orina a diversi intervalli dall'introduzione delle colture nello stomaco delle cavie, l'ho iniettata in quantità di 10-20 cc. in una sola volta nell'addome di altri animali, ma non ho mai osservato fenomeni tetanici. Ho pure salassato e in vario modo le cavie che avevano nel loro intestino notevoli quantità di filtrato, ed l iniettato il sangue in altre cavie, ma sempre senza effetto.

Se le feci si erano adunque mostrate senza virulenza, e nel sangue e nelle orine non comparivano neanco tracce delle toxine introdotte, conveniva ammettere delle modificazioni chimiche del filtrato nel passaggio attraverso lo stomaco e l'intestino, modificazioni che annullassero gli effetti tossici delle colture.

I problemi che si presentavano per lo studio di tali possibili modificazioni, erano numerosi e assai difficili. Non riporterò qui la lunga serie delle mie ricerche; mi limiterò ad accennare che allo studio isolato dell'azione del succo gastrico, del succo pancreatico, della bile, ecc. sulle colture filtrate, ho preferito di ricercare quali modificazioni subissero in contatto colla mucosa gastrica e con quella enterica. Ho seguito metodi differenti e con moltissime esperienze nelle cavie ho potuto constatare che in ispecial modo la mucosa del tenue ha la capacità di neutralizzare le toxine del tetano. Questo fatto si verifica in un tempo che non è costante in tutti i casi, però sempre assai breve, avuto riguardo all'enorme tossicità delle colture adoperate. Avverto che l'azione antitossica della mucosa del tenue al di fuori dell'organismo è assai poca cosa in confronto a quella che esercita sul filtrato introdotto direttamente nello stomaco degli animali. Ricordo poi che la mucosa del tenue di cavie, che avevano ricevuto notevoli quantità di colture di tetano filtrate, e che si uccisero uno o due giorni dopo l'ultima introduzione, mi si è mostrata con un potere antitossico molto inferiore a quello trovatosi colla mucosa enterica di cavie sane.

Lo studio dell'azione della mucosa dello stomaco e dell'intestino sulle colture non si è limitato a quelle private dei bacilli, ma anche a colture non filtrate e a diverso periodo di sviluppo.

Mentre da queste ricerche deducevo che la mancanza di po-
›re tetanigeno nelle feci degli animali, ai quali avevo som-
inistrate notevoli quantità di colture del tetano filtrate, si
›teva ascrivere all'azione antitossica della mucosa enterica,
mia attenzione veniva chiamata a tentare, sull'indirizzo

dato dal Behring e Kitasato, un nuovo metodo per conferire agli animali l'immunità pel tetano.

Con colture filtrate o rimaste per diverso tempo in contatto con mucosa enterica di cavia, e previamente studiate nel loro grado di virulenza negli animali più sensibili al tetano, sono riuscito ad ottenere nei conigli in un tempo assai breve, una vera immunità. Nelle cavie invece sebbene abbia avuto risultati incoraggianti non sono per ora giunto che a conferire una resistenza notevole alle toxine, ma non l'immunità all'infezione.

Per ultimo mi piace di riferire che collo siero dei conigli resi immuni ho conferito l'immunità ai topi.

Sassari, li 27 Giugno 1892.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Padova.
(Prof. A. STEFANI).

ULTERIORE CONTRIBUTO INTORNO ALL'AZIONE DELL'UREA SULL'APPARECCHIO CIRCOLATORIO

RICERCHE

DEI DOTTORI
A. CAVAZZANI e E. CHIARUTTINI

Ustimowitch, nel 1870, dimostrò che l'iniezione di urea nel circolo fa aumentare la pressione del sangue. Munk, nel 1887, confermando l'osservazione di Abeles, dimostrò che l'urea ha un'azione dilatatrice sopra i vasi renali. A. Cavazzani e G. Rebustello (1) nel 1890, stabilirono che la medesima azione dilatatrice è spiegata dall'urea sopra la maggior parte dei territori vasali dell'organismo. Nello stesso anno, Cavazzani (2) giunse a provare che l'aumento di pressione, che si verifica in seguito all'iniezione di urea nel circolo, dipende principalmente da una costrizione dei vasi periferici (e probabilmente anche viscerali) provocata dall'urea

(1) A. Cavazzani e G. Rebustello, « Dell'azione dell'urea sulle pareti vasali nei diversi visceri » (*Archivio per le Scienze med.*, vol. XV, 5).

(2) A. Cavazzani, « Dell'azione dell'urea sulle pareti dei vasi e sui centri vasomotori » (*Arch. per le Scienze Med.*, vol. XV, n. 21).

per una irritazione diretta dei centri vasocostrittori. Egli escluse che questa costrizione vasale si verificasse in via reflessa, per un'eccitazione delle estremità nervose degli arti, ed in base alle proprie osservazioni emise l'ipotesi, che l'ipertrofia del cuore nel morbo di Bright stesse alle dipendenze dell'azione che ha l'urea sui centri vasocostrittori, senza escludere però un'azione diretta dell'urea anche sul cuore.

Per completare lo studio della questione, restava ora a ricercare, se la costrizione vasale determinata dall'urea potesse verificarsi in via reflessa, per una stimolazione delle estremità nervose sensitive dei visceri, ed in particolar modo dei reni, e se l'urea avesse effettivamente anche sul cuore una qualche azione diretta.

Per risolvere il primo quesito, per ricercare cioè se le terminazioni dei nervi renali, o dei nervi propri dei visceri addominali, sono eccitabili direttamente dall'urea, ricorremmo allo stesso metodo, che da uno di noi era stato adottato per gli arti posteriori; praticammo cioè la circolazione artificiale attraverso l'arteria renale (rispettando tutti i filamenti nervosi che l'accompagnano), od attraverso all'aorta addominale, con due specie di sangue, l'uno normale, e l'altro medicato con urea (4 $^0/_{00}$), i quali si potevano sostituire alternativamente fra di loro, e contemporaneamente facemmo scrivere sopra un cilindro affumicato il tracciato della pressione carotidea. In nessun caso si modificò l'altezza della pressione, al momento del passaggio dell'urea attraverso alle distribuzioni dell'arteria renale, o dell'aorta addominale. Dobbiamo quindi concludere che *la costrizione dei vasi, successiva all'iniezione di urea nel circolo, non è conseguenza di un reflesso da parte dei nervi viscerali, come non lo è da parte dei nervi cutaneo-muscolari.* Crediamo però di dover far notare, che l'isolamento dell'arteria e della vena renali, quando si vuol praticarvi la circolazione artificiale ad animale vivo, è un atto operativo piuttosto grave e difficile, per modo che non si può sempre aver la sicurezza, che sieno rimasti completamente illesi i nervi renali: i risultati negativi, per conseguenza, ot

tenuti durante la circolazione dell'urea attraverso i soli reni, potrebbero rappresentare unicamente un'insufficienza nel metodo di ricerca usato. Ma il risultato negativo ottenuto anche cogli esperimenti di circolazione artificiale attraverso l'aorta addominale (presa subito sotto del diaframma), nei quali il liquido iniettato doveva pur passare necessariamente anche attraverso ai reni, senza che in questo caso fossero lesi i nervi renali, è sufficiente ad escludere un'azione eccitante dell'urea (nella diluzione usata da noi) sulle terminazioni nervose dei reni e degli altri visceri addominali.

Il secondo problema, riguardante la possibilità di una stimolazione diretta del cuore, per parte dell'urea, non potevasi risolvere con esperimenti sopra animali a sangue caldo. Perciò abbiamo esperimentato sul cuore della rana. A tal fine si legava il cuore alla sua base nel momento della diastole, in modo di conservarlo pieno del proprio sangue, e lo si portava fra le due branche della pinza cardiografica di Marey, la quale scriveva le pulsazioni sopra un cilindro girante. Chiuso così il cuore nella pinza, lo si immergeva per metà circa in una vaschetta di soluzione fisiologica di cloruro sodico, in maniera che fosse continuamente umettato dal liquido, che saliva per capillarità fra le branche della pinza, e che nello stesso tempo fosse a contatto diretto coll'ossigeno dell'aria. Si otteneva dapprima il tracciato normale, e, quando si era raggiunta una completa uniformità nell'altezza delle singole sistoli, si sostituiva alla prima vaschetta, una seconda, contenente la soluzione fisiologica addizionata di urea (3-4 $^0/_{00}$), avendo riguardo che il liquido della seconda vaschetta arrivasse allo stesso livello, a cui arrivava quello della prima: ciò per mantenere immutate le condizioni dell'esperimento, ed escludere ogni causa d'errore.

Abbiamo constatato così in una maniera sicura che *l'urea a un'azione eccitante sul cuore.* Sotto l'azione dell'urea la urva cardiografica diventa più alta e la linea ascendente ella sistole diventa più rapida, tantochè l'angolo ch'essa fa oll'orizzontale si fa meno ottuso. Contemporaneamente dimi-

nuisce alquanto la frequenza delle pulsazioni. Ciò appare evidentissimo dal tracciato seguente, e non meno evidente e costante appare nei tracciati di numerosi altri esperimenti.



aa, Cardiogramma iniziale.
bb, Cardiogramma sotto l'azione dell'urea (passate 380 pulsazioni).

Soltanto varia notevolmente l'intensità dell'azione eccitante dell'urea, poichè non sempre si ottiene un aumento così forte nell'altezza della curva.

L'azione eccitante dell'urea sul cuore si manifesta principalmente rinforzando l'energia della sistole. Essa può inoltre manifestarsi riattivando le contrazioni del cuore, quando queste si sieno arrestate. Se cioè s'immerge il cuore di rana, vuoto di sangue, nella soluzione fisiologica di cloruro sodico, e si attende che si sospendano del tutto le pulsazioni, aggiungendo cautamente alcune gocce della soluzione d'urea, è possibile vedere il cuore riprendere le sue contrazioni, e continuar a battere per qualche tempo. Però non sempre si ottiene questo risultato. Più facilmente si ottiene la dimostrazione dell'azione eccitante dell'urea, se si aggiunge questa, prima che il cuore si sia arrestato nella sua totalità, quando cioè s'è arrestato il ventricolo, e continuano le sole pulsazioni auricolari. Infatti, poco tempo dopo aggiunta l'urea, il ventricolo che prima aveva cessato di battere, riprende a pulsare con forza e continua a pulsare a lungo.

Se si separano fra loro le orecchiette con un taglio verticale, l'azione dell'urea si manifesta più prontamente. Ciò fa già supporre che l'azione dell'urea sul cuore non rappresenti un'azione diretta sulla fibr muscolare, ma soltanto sopra i gangli intracardiaci. Del qual cosa abbiamo ottenuta la prova, sottoponendo all'infl

enza dell'urea la sola punta del cuore, isolata, e chiusa nella pinza cardiografica. Infatti l'urea si mostra su di essa affatto inerte, tanto se si provoca la contrazione della punta colla corrente indotta, quanto se la punta si contrae automaticamente per lo stimolo dato dalla pressione continua, esercitata dalle branche della pinza cardiografica, stimolo che dà luogo ad una pulsazione ritmica continua, perfettamente simile a quella del cuore, provvisto ancora dei propri gangli.

Questo fatto si accorda perfettamente con quanto sappiamo relativamente all'azione dell'urea sui centri nervosi: di più ci spiega la lentezza colla quale, negli esperimenti eseguiti col cuore legato, si manifesta l'azione stimolante dell'urea, lentezza la quale probabilmente sta in rapporto col tempo necessario, perchè l'urea diffonda per osmosi, attraverso all'epicardio ed al miocardio, fino a raggiungere i gangli intracardiaci. In alcuni casi invece l'azione dell'urea sul cuore si manifesta prontissimamente. Tali differenze forse dipendono dalla località sulla quale è caduto il laccio con cui vien legato il cuore, relativamente ai diversi gangli intracardiaci.

In base a questi nuovi risultati, crediamo quindi di dover ammettere, come causa dell'ipertrofia di cuore nella nefrite cronica, oltre all'aumento della pressione sanguigna per l'eccitazione dei centri vasocostrittori, anche l'azione diretta dell'urea sui gangli cardiaci.

Padova, nel maggio del 1892.

Rivista Bibliografica Italiana

C. Lombroso. *Trattato clinico e profilattico sulla pellagra.* Torino, Bocca, 1892, con 20 tavole. L. 10.

In questo volume, in cui ogni traccia di polemica è posta da parte, salvo nella prefazione, appoggiandosi ai lavori di Miraglia e del Bodio, si studia la geografia della pellagra in Italia, e le variazioni che ebbero luogo in questi ultimi 15 anni.

Si analizzano le alimentazioni più comuni dei contadini di Europa, si studia la composizione chimica del mais, la sua diffusione in Europa e le ragioni per cui si guasta; quindi si esaminano i funghi, che direttamente o indirettamente, sono causa dell'alterazione del mais, ossia lo sclerotium e l'oidium lactis, ecc.

Si riassumono poi le esperienze note colle tinture e cogli estratti del mais guasto e colla tanto calunniata pellagroseina, in tutta la scala animale, dagli infusori, fino al cane, all'uomo, e si paragonano con animali avvelenati con olio di mais sano.

Per controllo e per rendere più vicine le esperienze a quanto accade sventuratamente in natura, si avvelenarono 10 cani con pane di meliga naturalmente ammuffito e se ne ottenne la morte, alcune volte col tetano e con spasimi muscolari, eritema cutaneo, dimagramento rapidissimo, con aumento di temperatura.

Questi studi fisiologici e sperimentali della pellagra, il Lombroso li completa con le ricerche cliniche minute sulla pelle, sui vasi, sul sugo gastrico, sulla temperatura, sui fenomeni nervosi e motorii, sui sensi e sulle forme varie di delirio dei pellagrosi e sulla anatomia patologica studiata in 113 autopsie.

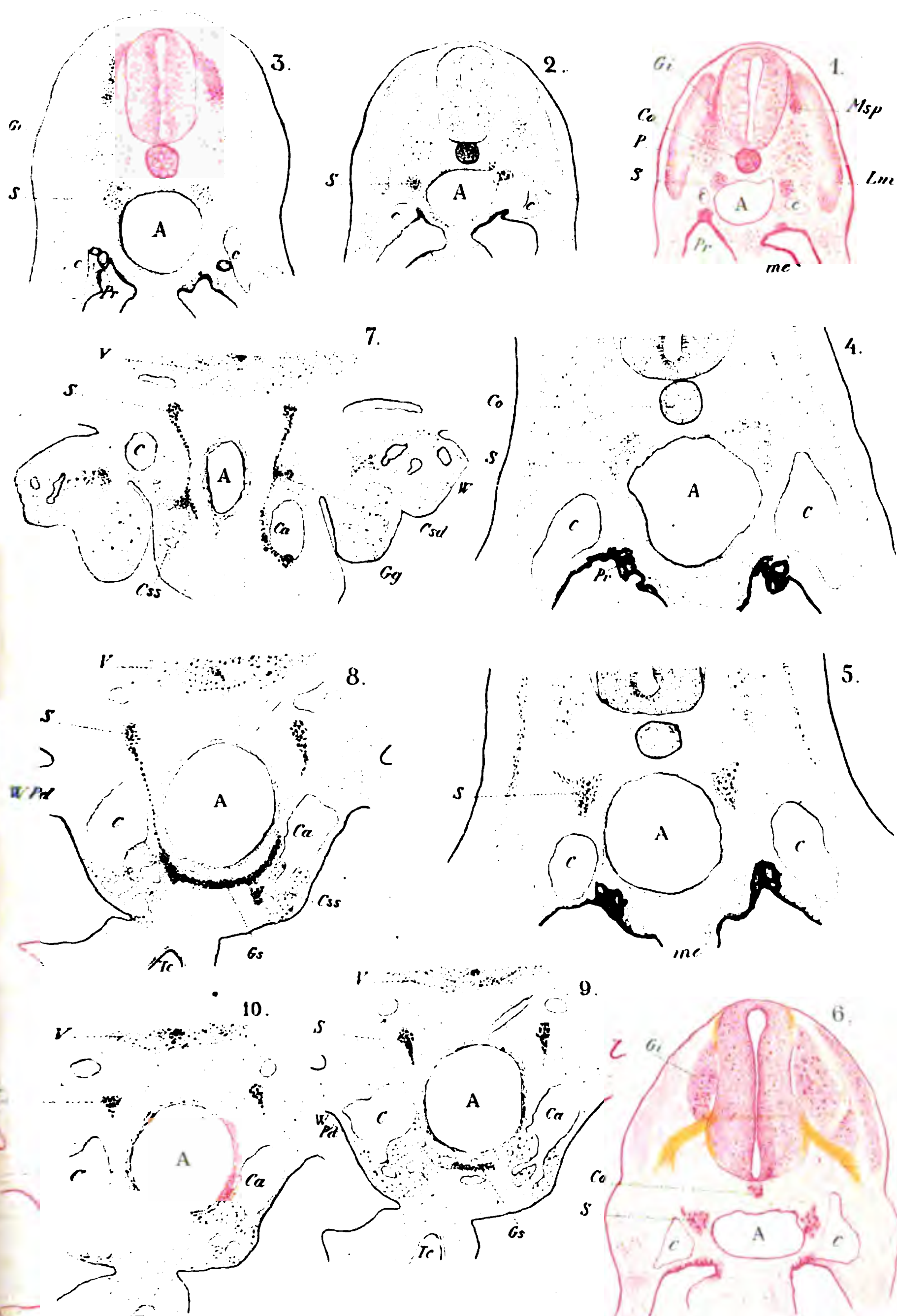
Fin qui la parte clinica, ma quello che forma la parte più

utile, più pratica e nuova del libro, è la igiene profilatica e la cura della pellagra.

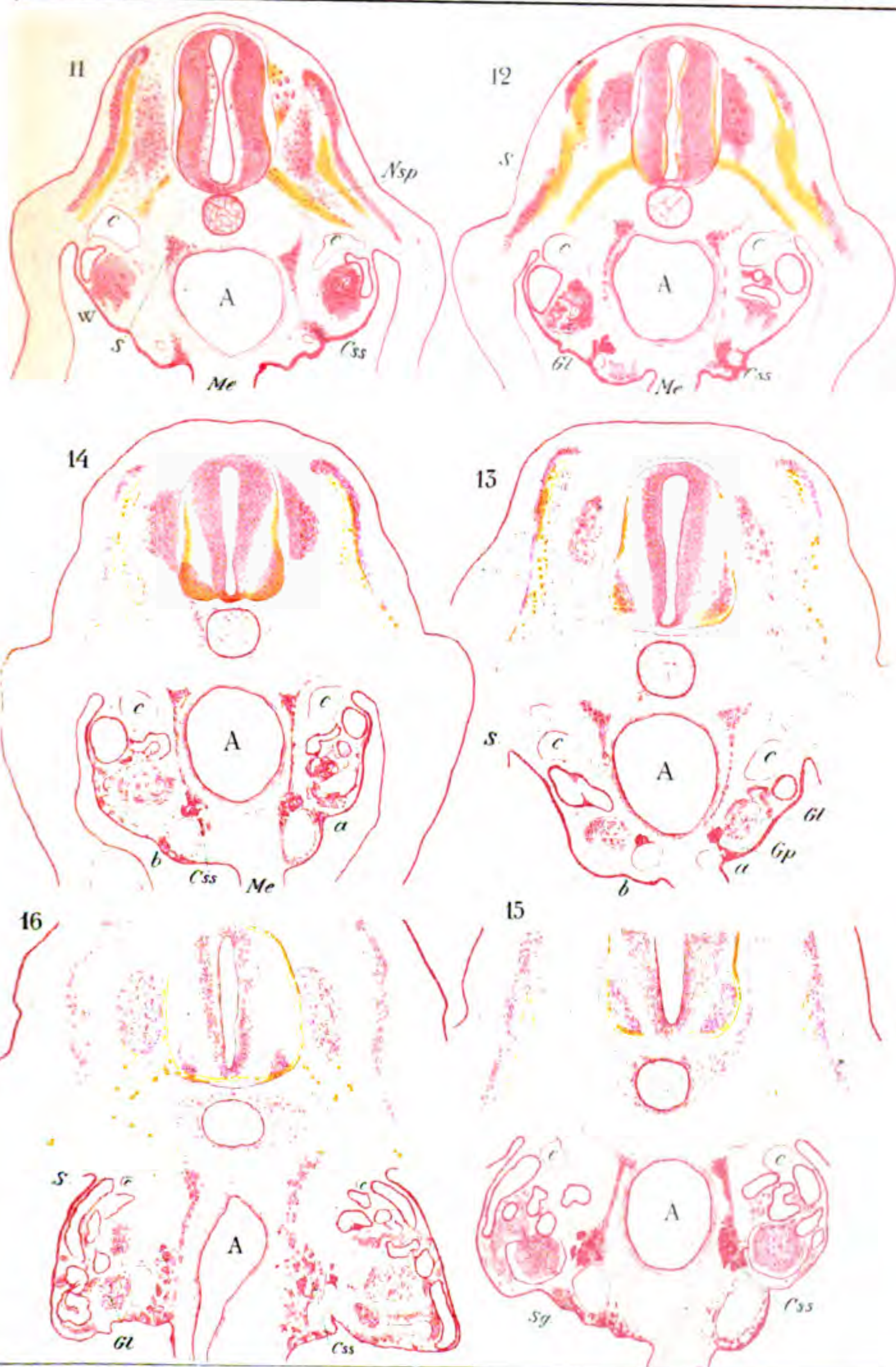
Il Lombroso mostra con parecchie centinaia di casi, in cui venne mirabilmente aiutato dal De-Orchi e dall'Alpago Novello, che l'arsenico, il cloruro di sodio, il cocculus, giovano molto nelle intossicazioni pellagrose, e che la pellagra con mezzi non molto costosi si può prevenire completamente, e tali mezzi sono i buoni immagazzinamenti del mais ed i suoi essiccatoi.

Aiutato dall'Ingegnere Taddei, dopo aver dato una rivista tecnica alle varie specie degli essiccatoi, egli disegnò un modello di essiccatoio improvvisabile con poca spesa in qualunque camerone da bachi da seta.

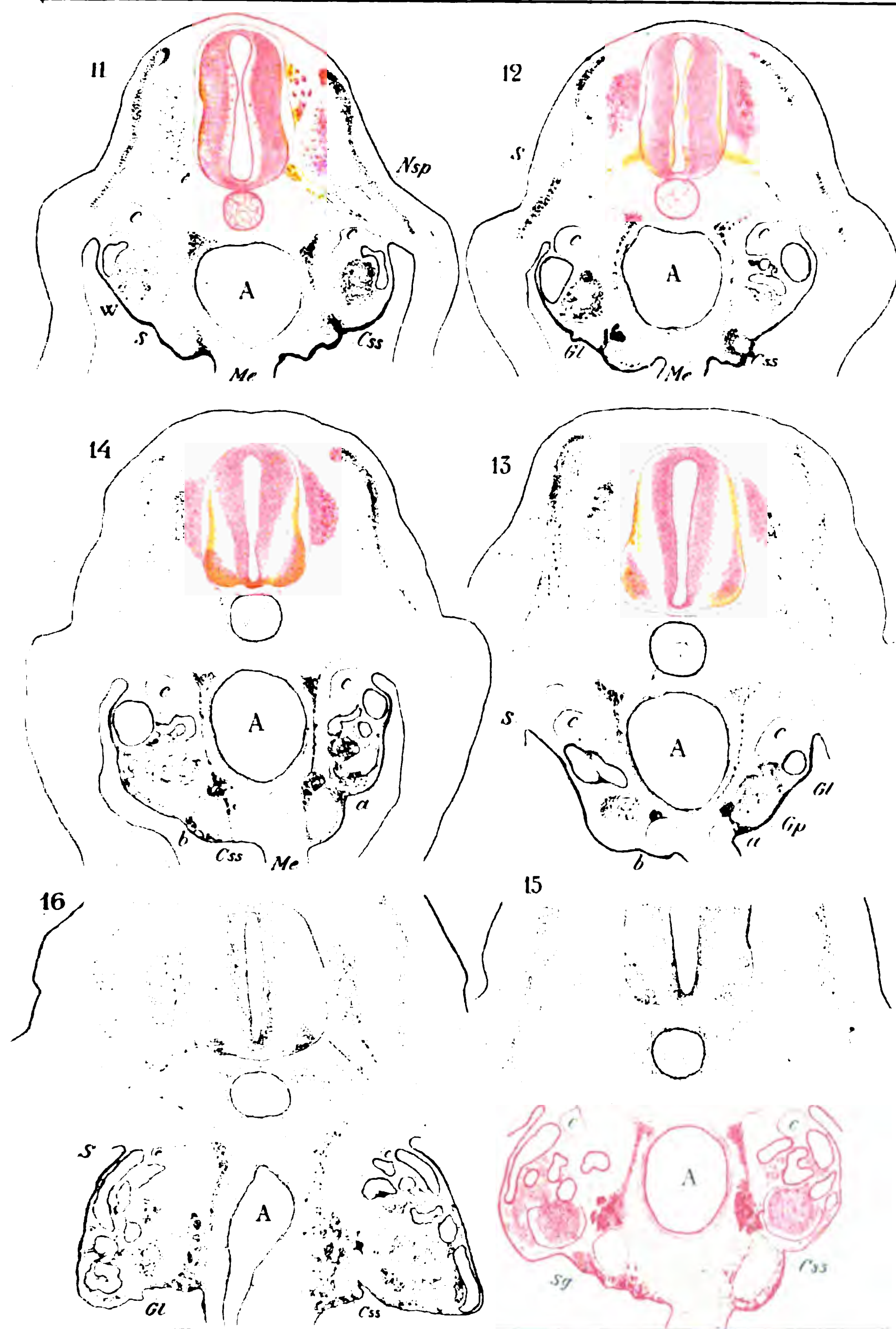
Il Lombroso corona l'opera con una sintesi generale di tutte le ricerche, e coll'applicazione di alcuni preparati di tintura d'olio di mais guasto ad alcune malattie della pelle le più ribelli.

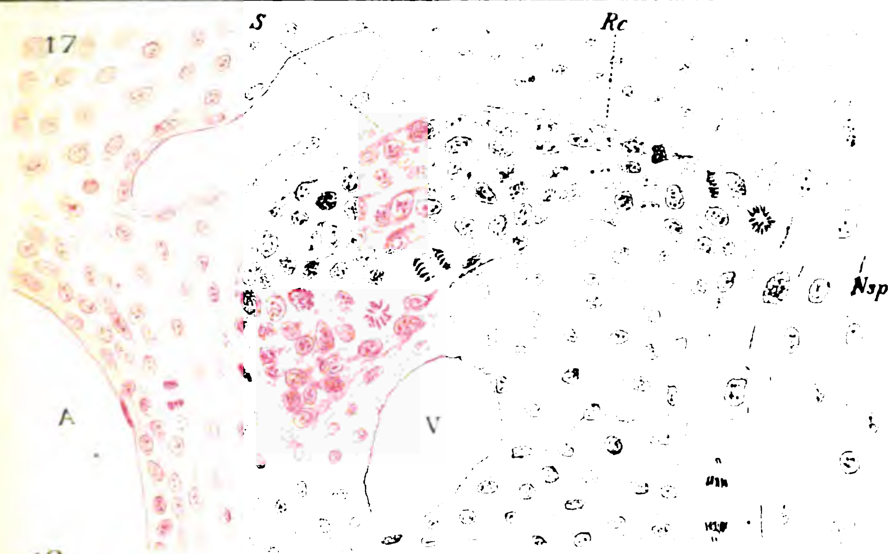

3.
Gi
S
A
c
Pr
2.
S
A
c
1.
Gi
Co
P
S
Msp
Lm
A
c
Pr
me
7.
V
S
C
A
Ca
Css
Co
S
W
Csd
Gg
4.
A
C
Pr
8.
V
S
W Pd
A
C
Ca
Css
Gs
Tc
5.
S
A
C
me
10.
V
S
A
C
Ca
Tc
9.
V
S
W Pd
A
C
Ca
Gs
Tc
6.
Gi
Co
S
A
c

R. Fusari dis.



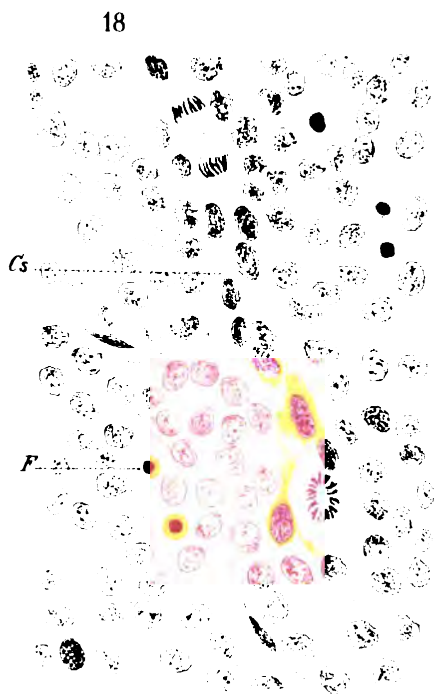
R. Fusari dis.


11
12
14
13
16
15
Nsp
A
S
W
C
Css
Me
Gl
Gp
a
b
Sg





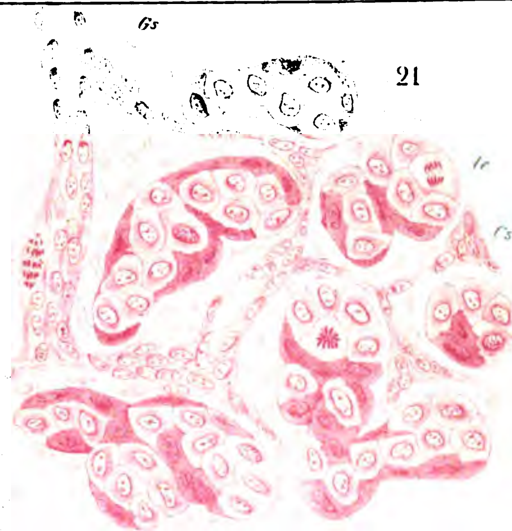




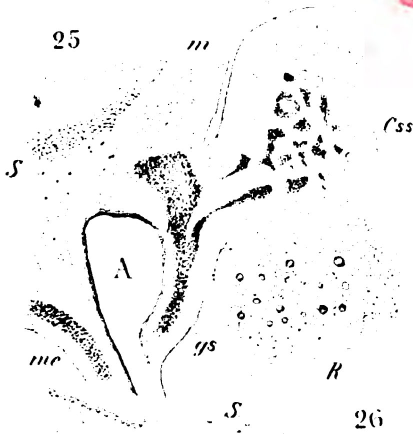
R. Fusari dis.



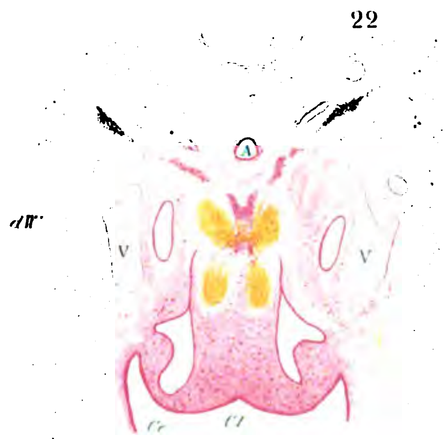
S
24
A
C
Gs
Gg
Css



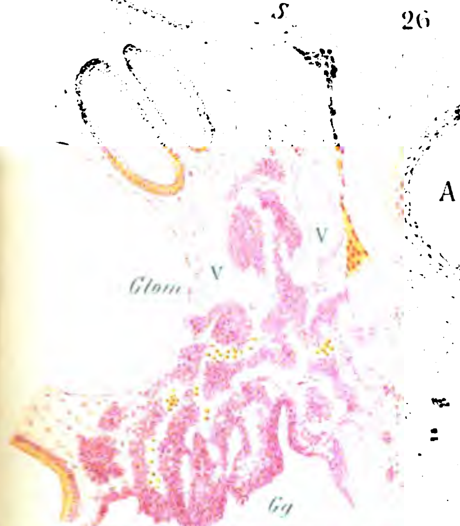
Gs
21



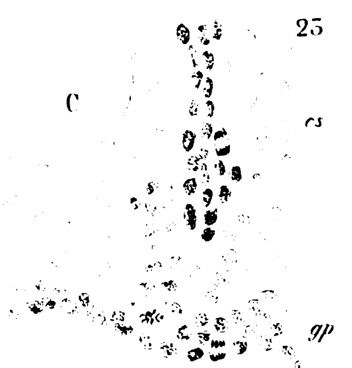
25
m
S
A
gs
me
R



Css
22
A
V
V



S
26
A
V
V
Glom
Gg



23
C
cs
gp

Fig. 1



Fig. 2

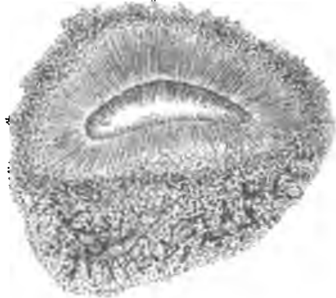


Fig. 3





Fig. 4



Fig. 5



Lit. Salussolia, Torino



Istituto di Patologia Generale della R. Università di Bologna
diretto dal Prof. G. Tizzoni.

RICERCHE BATTERIOLOGICHE SULL'INFLUENZA (1)

DEL

Dott. **Alessandro BRUSCHETTINI**

(Tav. IX)

Molto numerose sono state le ricerche batteriologiche eseguite in questi ultimi tempi sull'influenza per scoprire l'agente specifico di quella malattia, ma, fino alle più recenti osservazioni, nessuna condusse a risultati indiscutibili.

Mi limiterò quindi a parlare solo di quelle che veramente hanno portato un po' di luce su tale argomento.

Il Klebs (2) in un suo primo lavoro descrisse nel sangue d'individui colpiti da influenza una forma speciale di flagellati.

In una seconda comunicazione poi paragonò questi microrganismi al microbio lanceolato di Pasteur, dal quale però differiscono per alcuni caratteri culturali e per non resistere alla decolorazione col metodo Gram.

Il Klebs potè anche dal sangue ottenere culture pure, molto

(1) Vedi le mie Comunicazioni preventive:
« Ricerche batteriologiche sull'influenza » (*Riforma Medica,* n. 23, 1892), presentata alla R. Accademia delle Scienze di Bologna il 24 gennaio 1892.
« Di alcuni caratteri morfologici e culturali del bacillo dell'influenza » (*Rif. med.*, n. 66, 1892).
« Dell'azione patogena del bacillo dell'influenza » (*Riforma medica*, n. 141, 1892).

(2) *Central. für Bakt. u. Parasit.*, 1890.

simili a quelle del pneumococco di Fränkel, che si mostrarono patogene per il coniglio.

Il Babés (1) ha osservato e coltivato in molti casi di influenza tre specie di microrganismi, e uno di essi mi sembra abbia molti punti di somiglianza con quello che ora si ritiene essere l'agente specifico di tale malattia.

Questo microrganismo si trova nella secrezione della mucosa bronchiale, ed apparisce in forma di piccoli bastoncini, a volte colla sostanza colorante raccolta agli estremi, o di diplobacteri che spesso si riuniscono in lunghe catene. Ha osservato inoltre che questi bacilli si colorano male coi mezzi ordinarii di colorazione e non resistono alla decolorazione col metodo Gram.

Quanto ai caratteri culturali, il Babés ha veduto che tale bacillo cresce difficilmente sulla gelatina, che sul gelosio forma gocciolette confluenti, incolori, trasparenti, e che sull'agar dà luogo a coloniette piccolissime che somigliano a granelli di polvere.

Per ultimo ha trovato che tale microrganismo è patogeno pei conigli, ma che in colture artificiali, dopo 8-15 giorni perde ogni sua virulenza.

Con questo peraltro la questione della patogenesi dell'influenza non poteva dirsi peranco risolta; quando nel gennaio 1892 il Pfeiffer (2) annunziò di avere isolato e coltivato dal secreto bronchiale di individui colpiti da influenza uno speciale microrganismo che, pei suoi caratteri morfologici e culturali e per la sua costante presenza, ritenne come agente specifico di quella malattia. Il Pfeiffer descrisse questo microrganismo in forma di un corto bastoncino, simile per grandezza al bacillo della setticoemia dei topi e che, pel suo modo di disporsi, può facilmente essere preso per uno streptococco o per un diplococco.

Con gli esperimenti sugli animali il Pfeiffer ha dimo

(1) *Central. für Bakt. u. Paras.*, 1890.
(2) *Deut. Med. Woch.*, n. 2, 1892.

strato inoltre che *questo bacillo è patogeno per le scimmie e pei conigli.*

Finalmente egli ha trovato che tale microrganismo non vive a lungo nei mezzi artificiali di nutrizione, tanto che non riuscì a conservarlo oltre la terza generazione.

Contemporaneamente al Pfeiffer, il Kitasato (1) annunziava di essere riuscito a conservare il bacillo dell'influenza fino alla decima generazione, coltivandolo su agar glicerinato. Il Kitasato asserì inoltre che questo bacillo non nasce sulla gelatina, avendo bisogno per vegetare di una temperatura superiore a quella di fusione della gelatina stessa.

Pure nello stesso tempo, il Dott. Canon, dell'Ospedale Moabit di Berlino, faceva noto (2) di aver trovato nel sangue di ammalati d'influenza un bacillo eguale a quello del Pfeiffer, che solo più tardi, dopo ripetuti tentativi, riuscì a coltivare.

Questo bacillo e quello coltivato dal Kitasato *furono veduti dal prof. Koch che li giudicò identici a quello isolato dal Pfeiffer.*

Dopo pochi giorni dalla scoperta del Pfeiffer e precisamente il 24 gennaio 1892, io annunziavo alla R. Accademia delle Scienze di Bologna di aver trovato e coltivato dal sangue di ammalati d'influenza uno speciale microrganismo che pei suoi caratteri morfologici e colturali e per la sua costante presenza nel sangue di influenzati ritenni eguale a quello del Pfeiffer. Le mie ricerche differivano da quelle del Canon per avere io adoperato quantità di sangue molto maggiori, e per essermi servito del sangue stesso come mezzo di coltura, facendo anzi notare nella mia comunicazione come questo mezzo fosse adatto più che ogni altro per lo sviluppo del bacillo dell'influenza (3).

Quattro mesi circa dopo la sua prima comunicazione, il Pfeiffer ne pubblicava una seconda (4) nella quale riportava

(1) *Deut. med. Woch.*, n. 2, 1892.
(2) *Deut. med. Woch.*, n. 2, 1892.
(3) *Riforma Medica*, n. 23, 1892.
(4) *Deutsch. med. Woch.*, 21, 1892.

i risultati degli esami microscopici di organi di individui morti in seguito ad influenza; e descriveva nuovi caratteri del bacillo da lui isolato.

In questo lavoro il Pfeiffer asserisce inoltre che i bacilli studiati dal Canon e dal Kitasato, già osservati dal Koch, non sono i veri bacilli dell'influenza, e che a lui non riuscì mai trovarli nel sangue.

E riguardo alle osservazioni mie e del Babés, il Pfeiffer afferma che noi non abbiamo mai avuto nelle mani il vero bacillo dell'influenza. E tali asserzioni il Pfeiffer le appoggia semplicemente sul fatto di avere egli trovato in numerose ricerche bacilli simili, ma non identici, a quelli dell'influenza, i quali sono distinti per speciali caratteri culturali, di non prosperare, cioè, nei soliti substrati nutritivi, ma solo in alcuni più complessi e del tutto speciali.

Il Pfeiffer, partendo dal concetto che il bacillo dell'influenza, vivendo nel secreto bronchiale, abbia bisogno di materiali albuminoidi di elevata composizione chimica per adattarsi alla vita saprofitica, immaginò coltivarlo nell'agar glicerinato sulla cui superficie era distesa una goccia di sangue umano. Le quali condizioni avevo già io stesso realizzato, prima del Pfeiffer, quando trasportavo un'ansa di coltura in sangue del bacillo dell'influenza sull'agar glicerinato.

Riguardo poi al potere patogeno del bacillo dell'influenza, il Pfeiffer nella sua seconda comunicazione, contradicendo quanto nella prima aveva affermato, dichiara che i conigli sono per questo microrganismo *absolut immun*. Che le colture del Pfeiffer, ad onta del nuovo mezzo nutritivo da lui ideato, si sieno attenuate? Ma allora al nuovo, unico substrato nutritivo, dal Pfeiffer proposto per i bacilli dell'influenza, mi sembra certo preferibile quello più semplice, da me adottato fino dai primi tempi delle mie ricerche, delle colture in sangue, dove io ho potuto conservare l'agente specifico dell'influenza per molti mesi in tutta la sua potenza vegetativa ed anche patogena, come si vedrà più innanzi.

Che, nonostante l'asserzione del Pfeiffer, io abbia real-

mente coltivato e studiato il vero bacillo dell'influenza, questo risulterà chiaramente, oltre che dalle cose dette, dalla descrizione che ne darò più avanti, nonchè dai fotogrammi che corredano la presente Memoria.

D'altra parte basterebbe a dimostrare questo anche il solo fatto, che sopra undici casi d'influenza, in nove io ho trovato nel sangue allo stato di purezza uno stesso microrganismo.

E negli ammalati scelti per le mie esperienze, la diagnosi d'influenza è assolutamente fuori di discussione, perchè fatta da medici competentissimi, come il Prof. Cantalamessa. Anzi, a questo proposito, mi piace qui riportare brevemente la storia di alcuni casi d'influenza da me studiati.

1° Caso. — Pel..... Anna di anni 47, attendente a lavori domestici, ammalò il 29 dicembre 1891, con febbre, cefalea e dolori alle articolazioni. Rimase in casa fino al 4 gennaio 1892, allorchè essendosi aggravati i detti fenomeni e aggiungendosi catarro bronchiale e un forte abbassamento della voce, ricoverò all'Ospedale Maggiore nella sezione del Prof. Cantalamessa, dal quale venne emessa la diagnosi d'influenza. Il giorno 6 gennaio 1892 alle ore 11 ant. estrassi con una siringa Tursini sterilizzata, 5 cmc. di sangue da una delle vene della piegatura del braccio. L'ammalata aveva, quando fu raccolto il sangue, una temperatura di 38°2', e si lagnava di forti dolori muscolari vaganti. Il sangue fu lasciato in una provetta sterilizzata, nel termostato a 37° per due giorni, scorso il qual tempo lasciò vedere una forte quantità di piccolissimi bacilli parte liberi, parte racchiusi entro i globuli bianchi. Fu da questo caso che ottenni la prima coltura dei bacilli dell'influenza.

2° Caso. — Zanol..... Pietro, d'anni 39, cocchiere, ammalò il 2 gennaio con tosse insistente, febbre e cefalea intensa. Entrò all'Ospedale Maggiore il giorno 8 gennaio 1892. All'ascoltazione del torace si sentivano rantoli umidi a grosse bolle sparsi per tutto l'ambito polmonare, l'escreato era abbondantissimo, la cefalea così intensa che l'ammalato si lamentava di non poter dormire. La mattina del 12 gennaio, mentre aveva una temperatura di 39°3, gli aspirai, pure dalla vena della piegatura del braccio, 5 cmc. di sangue, che mostrò egualmente, dopo che fu lasciato per qualche giorno nel termostato, la presenza di bacilli perfettamente identici a quelli da me già trovati nel primo caso.

Gli altri nove casi da me scelti, e di cui tralascio di riportare le storie, essendo, salvo poche varianti, eguali a quelle riferite, erano pure tipi genuini d'influenza, esenti da qualunque complicazione.

Degli undici casi da me studiati, in due solamente l'esame batteriologico del sangue fu negativo: per uno di questi è da notare per altro, che tal esame fu praticato in 18ª giornata di malattia.

Oltre i casi suddescritti ebbi occasione di esaminare un caso di pleurite suppurativa, quale successione morbosa dell'influenza, con localizzazioni primitive bronco polmonari, in un bambino operato di toracentesi dal Prof. Tizzoni. L'esame dell'essudato, ottenuto mediante aspirazione con una siringa Tursini sterilizzata, mi rivelò la presenza dello stafilococco piogene albo e di un bacillo che pei suoi caratteri morfologici e culturali riconobbi facilmente per quello dell'influenza.

Eccettuato questo caso, tutte le mie ricerche furono dirette esclusivamente al sangue. Questo fu sempre aspirato mediante siringa Tursini sterilizzata, da una delle vene della piegatura del braccio, previa accurata disinfezione della parte, in una quantità di 3-5 cmc., e sempre nel periodo acuto, febbrile della malattia. Nella maggioranza dei casi, l'esame microscopico diretto del sangue non lasciava vedere che scarsissimi bacilli sottili, difficilmente colorabili. Se per altro questo sangue veniva lasciato nel termostato a 37° C. entro tubi sterilizzati, dopo cinque o sei giorni era possibile ottenere ricchissime colture di quei microrganismi, che erano allora molto facilmente trasportabili negli ordinarii mezzi artificiali di nutrizione, nei quali nascevano pure molto riccamente, benchè in grado minore che nel sangue.

In questo modo veniva dimostrato col criterio più sicuro che possediamo, cioè per mezzo delle colture, che nel periodo acuto dell'influenza si ha, almeno nella maggioranza dei casi qualunque sia la forma clinica colla quale questa malattia s esplica, la presenza nel sangue di uno speciale microrganism che al microscopio e nelle colture offre caratteri particolari

Queste medesime ricerche, come dissi, furono eseguite dal Dott. Canon, peraltro a lui non era riuscito, in primo tempo, di coltivare questo microrganismo, e solo in seguito, dopo la pubblicazione delle mie prime ricerche, arrivò all'intento, col mettere in coltura maggiori quantità di sangue, versando cioè qualche goccia (8-12) di questo in capsule Petri contenenti uno strato di agar o di gelatina.

Tanto l'esame microscopico poi dei preparati fatti dal sangue lasciato in coltura, quanto quello delle colonie che si sviluppano sia sulle piatte, sia sulle colture per strusciamento in agar inclinato a becco di clarino, dimostrarono che nel sangue preso da ammalati d'influenza, il bacillo sopra rammentato si trova allo stato di purezza, cioè non accompagnato da altri batterii, e che da quello può più facilmente e direttamente ottenersi in coltura pura.

Le mie ricerche dimostravano inoltre che il sangue dell'uomo estratto dalla vena è un eccellente materiale di coltura per il bacillo dell'influenza, nel quale questo microrganismo vive e si moltiplica molto riccamente.

Il bacillo dell'influenza da me studiato presenta i seguenti caratteri colturali.

Nell'agar glicerinato e peptonizzato e inclinato a becco di clarino, dopo sole 24-48 ore la coltura si presenta sotto forma di piccolissime colonie trasparenti, rotonde, grigiastre, simili a gocciolette di rugiada, ovvero, se il materiale trasportato è molto ricco di bacilli, per la confluenza delle colonie, assume l'aspetto di un sottilissimo velo grigiastro, finamente punteggiato, trasparente, a superficie umida e piuttosto lucente.

Causa poi la sottigliezza e la trasparenza della coltura, questa si rileva meglio se viene osservata a luce diretta anzichè a luce riflessa.

È caratteristico il fatto che trasportando una coltura su agar in un nuovo tubo pure con agar non si ottiene più la produzione di un velo, a meno che il materiale trasportato non sia abbondantissimo, e così, proseguendo sempre a trasportarla in

nuovi tubi, le colonie si fanno sempre più distanti le une dalle altre e assumono un aspetto meno trasparente e un colorito più biancastro.

In siero di sangue gelatinizzato, peptonizzato e inclinato a becco di clarino, si ottengono dopo 24-48 ore ricchissime colture tanto all'aria che sotto idrogeno, queste però più ricche di quelle. In un primo tempo, la coltura, fatta svilupparе nel termostato a 37° C., si presenta costituita, come in agar, da piccolissimi punticini rotondi, un pochino rilevati sulla superficie del mezzo nutritivo, umidi, ma un poco più grandi e meno trasparenti di quelli che si sviluppano sull'agar stesso.

Dopo cinque o sei giorni, se il materiale trasportato era in quantità abbondante, le colonie confluiscono fra loro, e unendosi le une alle altre, formano nella parte centrale della coltura, una pellicola sulla superficie del siero, lucida, di aspetto lattescente e tanto sottile che a pena si arriva a distinguerla guardandola a luce riflessa.

Debbo poi qui far notare come le colture descritte, tanto in agar che in siero di sangue, mostrano una tendenza spiccatissima a svilupparsi nelle fenditure che accidentalmente possono essere state fatte entro quei mezzi di nutrizione nel praticare l'innesto. Questo carattere delle colture di svilupparsi nella profondità meglio che alla superficie dei varii substrati nutritivi, apparisce anche più manifesto quando si fanno innesti per puntata. Così nelle puntate in siero di sangue gelatinizzato e non inclinato, non si osserva quasi nessun sviluppo alla superficie del siero, mentre lungo la linea d'infissione si vede una rigogliosissima coltura formata da tanti punticini, sferici, biancastri, nettamente distinti gli uni dagli altri, che si fanno tanto più piccoli e più scarsi a misura che si sale dalle parti profonde della coltura alla superficie di questa.

In sangue di coniglio raccolto direttamente dalla carotide in modo asettico e tenuto per due o tre giorni al termostato, il bacillo dell'influenza si sviluppa molto rigogliosamente come nel sangue dell'uomo, senza quasi presentare

differenza se la coltura è lasciata all'aria libera o se è mantenuta nel vuoto.

In questo mezzo di nutrizione lo sviluppo di tale microrganismo è maggiore che in qualunque altro; in esso conserva perfettamente il suo potere vegetativo, cosicchè è facile trasportarlo in altri mezzi nutritivi, sui quali si possono pure ottenere e per varii trapianti, delle colture bastantemente ricche.

Nel brodo peptonizzato e tenuto all'aria libera a 22° C. anche dopo molti giorni di osservazione, manca qualunque sviluppo della coltura. Nel brodo invece bollito per 10 minuti e poi rapidamente raffreddato e tenuto pure alla temperatura di 22° C., la coltura si sviluppa, ma rimane sempre molto povera; per contro nel brodo al vuoto pure a 22° si ottiene una coltura abbastanza ricca. In tal caso dapprima si ha un intorbidamento uniforme del brodo, poi, come avviene per le colture dello streptococco, si formano delicati fiocchetti che cadono al fondo della provetta, ove formano un precipitato bianco giallastro, granuloso che facilmente si solleva nei movimenti che vengono impressi al liquido, il quale, dopo avvenuta la sedimentazione, nel maggior numero dei casi, torna a farsi trasparente. Alcune volte per altro, anche dopo la separazione e la caduta dei fiocchetti, il brodo non si rischiara perfettamente, ma rimane torbido per una specie di polvere sottile e bianchiccia che solo dopo molto tempo cade anche essa al fondo del tubo. In questi casi io ho sempre avuto cura di accertarmi che la coltura si era conservata pura e che non era punto cambiata la reazione leggermente alcalina del brodo.

Un eguale sviluppo anche più abbondante si osserva nelle colture in brodo a 37° C. tanto all'aria che al vuoto.

Nelle colture in gelatina per puntata, tenute all'aria libera a 22° C., il bacillo dell'influenza cresce assai stentatamente. Lungo l'infissione dell'ago non si sviluppano, e questo solo in pochi tubi, che scarsissime colonie sferiche, bianco grigiastre, opache, molto distanti le une dalle altre, un poco più

grosse di quelle delle colture in gelatina al vuoto; in generale possono paragonarsi alle scarse colture in gelatina dello pneumococco attenuato. Nelle colture in gelatina per puntata, mantenute al vuoto alla temperatura di 22° C., dopo 4-5 giorni cominciano ad apparire lungo l'infissione, piccoli punticini bianchi, trasparenti, che a poco a poco crescono in grossezza, restando peraltro sempre distinti gli uni dagli altri, e infine dopo 8-10 giorni, si forma lungo tutto l'innesto come un delicato nastrino sottilissimo, grigiastro, finamente punteggiato, a contorno crenato, simile alla coltura in gelatina dello streptococco piogene, colla differenza che nelle colture del bacillo dell'influenza le singole colonie sono più piccole di quelle dello streptococco. Colture collo stesso aspetto, benchè alquanto meno ricche, si sviluppano nella gelatina all'aria libera a 22° C. purchè quella, prima dell'innesto, sia stata fatta bollire per dieci minuti e poi rapidamente raffreddata. A 37° C. colture aerobiche ed anaerobiche in gelatina dànno un discreto sviluppo benchè minore che nel brodo.

Debbo qui far notare finalmente come tanto nel brodo quanto nella gelatina a 22° C. la coltura si sviluppa più facilmente e più rapidamente, se il materiale, anzichè da una coltura in sangue, viene preso da una in agar, il che ci sta forse a dimostrare come in questo mezzo di nutrizione il bacillo dell'influenza subisca un leggiero grado di attenuazione.

Inoltre, se le colture in brodo e in gelatina vengono trasportate sull'agar, non si ha mai la produzione di un velo, per quanto il materiale sia ricco, ma le singole colonie restano distanti le une dalle altre.

Nelle colture piatte fatte in gelatina bollita e infettata mentre si stava raffreddando e in quelle al vuoto in tubi secondo il metodo Esmarch e tenute alla temperatura di 22° C. dopo cinque o sei giorni si cominciano a vedere colonie piccolissime che al microscopio appariscono rotonde, giallognole, a contenuto fortemente granuloso, a contorno netto (Fig. 6ª). A periodo di tempo più avanzato queste colonie si fanno più scure, di un colore giallo bruno, a contorno un po'irregolare,

e nelle colture molto vecchie la loro superficie si presenta come gibbosa.

Colture piatte in agar per strusciamento, fatte sviluppare nel termostato a 37° C., mostrano dopo 4-5 giorni delle piccolissime colonie, a fatica visibili ad occhio nudo, che, esaminate al microscopio, appariscono pianeggianti, granulose, a contorno punteggiato, assai trasparenti e di un colore giallognolo più intenso al centro che alla periferia della colonia. In un periodo di tempo più avanzato il contorno della colonia si fa irregolare, il colore diventa più carico e come sfumato dal centro alla periferia della colonia stessa.

Dopo la seconda comunicazione del Pfeiffer, ho coltivato il bacillo da me isolato su agar inclinato, sulla cui superficie era stata distesa una goccia di sangue, su colture piatte con agar e sangue ed ho sempre potuto osservare un notevole sviluppo delle colture, senza peraltro poter notare alcuna differenza con quelle da me ottenute con materiale preso dalle colture in sangue.

Da ultimo ho osservato rispetto ai caratteri generali delle colture del bacillo dell'influenza, che questo non tramanda nessun odore speciale, non modifica la reazione alcalina dei varii mezzi di nutrizione, che non fluidifica mai la gelatina e il siero di sangue gelatinizzato, non scioglie il coagulo delle colture in sangue, e che finalmente, nelle condizioni in cui il suo sviluppo è molto ricco, può essere facilmente trapiantato per molte generazioni senza perdere nulla del suo potere vegetativo.

Da quanto ho esposto finora risulta *che il bacillo dell'influenza cresce abbastanza bene negli ordinarii substrati nutritivi, che peraltro il suo massimo di sviluppo ottiene soltanto con materiale di composizione più elevata (sangue, siero di sangue gelatinizzato), che questo microrganismo è un anaerobio facoltativo e che, coltivato adeguatamente, può conservare a lungo la sua potenza vegetativa.*

Riguardo ai caratteri microscopici del bacillo dell'influenza ecco quanto ho potuto osservare:

Questo microrganismo è assolutamente immobile; si colora molto debolmente con i comuni colori basici di anilina, si colora abbastanza bene con il metodo di Löffler a caldo e con il liquido di Ziehl allungato, nonchè, come io ho potuto vedere, con una soluzione simile a quella del Löffler, nella quale al bleu di metilene si sostituisca la fucsina basica: non resiste nel metodo Gram alla decolorazione coll'alcool.

Riguardo alla sua forma il bacillo dell'influenza mostra un grande polimorfismo, per cui ora si presenta come un cocco (Fig. 3ª), ora si presenta come un diplococco (fig. 2ª), ora come uno streptococco (Fig. 4ª), ora finalmente come un sottile e corto bacillo (Fig. 1ª) ad estremi arrotondati, che ha le dimensioni, a un dipresso, di quello della setticoemia dei topi, ed alcune volte con la sostanza colorabile raggruppata verso i poli del bacillo stesso.

Queste variazioni nella forma del bacillo dell'influenza stanno poi in rapporto immediato con le sue fasi di sviluppo e anche col mezzo di nutrizione nel quale viene coltivato.

Infatti nell'agar glicerinato il bacillo dell'influenza si presenta come un diplococco con uno dei diametri leggermente allungato, come nel diplococco di Fränkel, o come uno streptococco (Fig. 2ª e 4ª): raramente è dato di osservare una forma nettamente bacillare; ciò che avviene sempre più facilmente quando la coltura in agar proviene da materiale preso da una coltura in sangue piuttosto che da una coltura in brodo o in gelatina.

Quando poi una coltura in agar venga trasportata in siero di sangue gelatinizzato o meglio in sangue di coniglio, le forme suddescritte scompaiono quasi del tutto per dar luogo a bacilli ben caratterizzati, identici a quelli che si trovano nel sangue di ammalati d'influenza (Fig. 1ª). Questi bacilli, molto piccoli, ad estremi arrotondati, si dispongono facilmente due a due, e molte volte, per la riunione di più coppie, si formano lunghe catene od ammassi di bacilli, accanto ai quali

non è difficile vedere anche qualche corto filamento. In questo mezzo di nutrizione poi (sangue), i bacilli non solo si trovano liberi, ma anche accumulati dentro ai leucociti, il cui protoplasma viene ad essere poco a poco eroso, disfatto da quei microrganismi (Fig. 5ª).

Se la coltura è molto vecchia, allora, accanto alla forma nettamente bacillare, appariscono anche quelle di diplococco allungato e di streptococco, nonchè alcune altre forme d'involuzione.

Che se poi una coltura giovane in sangue di coniglio si trapianta di nuovo in agar glicerinato, allora, solo nel primo periodo di sviluppo di quell'innesto, si conserva la forma bacillare, che ben presto cede il posto, quasi completamente, alle solite forme di streptococco.

Nella gelatina a 22° C. e nel brodo pure a 22° C. si osservano forme miste di cocchi e di bacilli, questi peraltro sono assai scarsi e si colorano molto debolmente.

Nel brodo e nella gelatina a 37° C. solo raramente si osserva la forma bacillare, predomina sempre quella a streptococco e a catene molto più lunghe di quelle che si possono osservare in agar glicerinato.

Debbo far notare peraltro come anche nelle forme pure di streptococco non si hanno mai cocchi perfettamente rotondi, ma sempre un po' allungati e disposti col loro asse maggiore perpendicolarmente all'arse longitudinale della catena.

In quei mezzi nei quali specialmente il bacillo dell'influenza cresce meglio (sangue di coniglio, siero di sangue gelatinizzato) accanto alle forme già descritte se ne possono osservare altre che debbono indubbiamente ritenersi come forme d'involuzione. Tali sono bacilli quasi incolori con la sostanza colorante disposta in masse rotonde agli estremi di questi, bacilli con estremo rigonfiato a guisa di clava o a forma d'ampolla, ed altri che hanno una distribuzione strana irregolare della loro sostanza colorabile.

In alcuni preparati finalmente, specie se colorati colla fucsina, le forme a diplobacillo e a diplococco sembrano contor-

nate da una capsula che non sono però riuscito a mettere chiaramente in evidenza.

Il microrganismo dell'influenza adunque, che in fasi del massimo sviluppo, e nei mezzi di nutrizione più adattati si presenta come un bacillo molto sottile, corto, ad estremi arrotondati (Fig. 1ª), *è capace in altre fasi del suo sviluppo o in condizioni meno favorevoli alla sua vita di assumere forme microscopiche molto diverse* (Fig. 2ª, 3ª, 4ª).

Studiati in tal modo i caratteri morfologici e culturali del bacillo dell'influenza. mi sono da ultimo occupato della sua azione patogena.

Gli animali da me scelti per tali ricerche furono il mus musculus albinus, la cavia, il coniglio, e il cane.

Inoculazioni praticate sotto la cute, in circolo e direttamente in trachea, anche con grandi quantità di colture in brodo, riuscirono senza effetto alcuno in tutti gli animali sopranominati. Risultati egualmente negativi ottenni con colture in agar stemperate in un poco d'acqua sterilizzata.

E debbo far notare qui, una volta per tutte, come colle iniezioni sottocutanee, qualunque fosse il materiale nutritivo su cui erano sviluppate le colture che io esperimentavo, non ebbi mai ad osservare produzione di pus.

Visto che le colture in brodo e in agar non erano capaci di indurre alcun fenomeno morboso in questi animali nei quali venivano iniettate, pensai di esperimentare le colture in sangue di cui il Prof. Tizzoni e la Dott.ª Cattani per primi si sono serviti nel tetano, e nelle quali hanno dimostrato che la produzione di sostanze tossiche è molto maggiore che in qualunque altro mezzo di nutrizione e dove sapevo già che il bacillo dell'influenza trovava le condizioni più favorevoli al suo sviluppo.

Il mus musculus albinus e il cane si mostrarono assolutamente refrattarii anche per forti dosi di queste colture inoculate, sia sotto la pelle, sia in circolo, o direttamente in trachea

La cavia invece ed il coniglio (e questo più di quella) si mostrarono abbastanza sensibili per le iniezioni di colture in sangue del bacillo dell'influenza.

Allorchè questi animali venivano inoculati, anche con forti quantità di tali colture, sotto la cute, non si aveva a notare altro fenomeno all'infuori di un leggero elevamento di temperatura che si dileguava ben presto, in due o tre giorni al massimo. Al contrario le iniezioni fatte in trachea alla dose di 1-2 cmc. dettero un quadro morboso, nella maggioranza dei casi, ben spiccato.

Due o tre giorni dopo l'iniezione, l'animale cominciava a presentare un notevole elevamento termico (40°3-41°2) e dimagramento.

Trascorsi cinque o sei giorni appariva uno scolo abbondante dalle narici, dispnea prevalentemente inspiratoria, e all'ascoltazione dell'apparecchio respiratorio si udivano rantoli umidi sparsi per tutto l'ambito toracico, e, alcune volte, nei casi più gravi, soffio bronchiale. In un terzo degli animali da me inoculati seguiva la morte dopo un periodo di tempo variabile a seconda della robustezza dell'animale e della quantità di coltura iniettata. La morte era sempre preceduta da un rapido accentuarsi dei fenomeni suddescritti, da un brusco abbassamento di temperatura e da una respirazione aspra che si faceva udire anche a distanza.

Lo stesso quadro si otteneva, benchè con molto minore frequenza, quando le iniezioni venivano praticate in circolo. In questo caso però l'effetto era più sicuro se la quantità di coltura iniettata era maggiore che non in trachea e se all'iniezione si faceva seguire una puntura del polmone con un ago sterilizzato.

Oltre alla forma acuta che conduceva a morte l'animale in dodici o quindici giorni, ho potuto anche osservarne un'altra, benchè raramente, a decorso molto più lento. In questo caso l'insorgere dei fenomeni non avveniva due o tre giorni dopo l'iniezione, ma solo dopo otto o dieci giorni, e la morte non succedeva che dopo trenta o più giorni.

L'esame batteriologico del sangue e del secreto bronchiale degli animali colpiti da influenza, qualunque fosse il modo col quale erano inoculati, fatto nel periodo febbrile, acuto della malattia, dette, nella maggioranza dei casi, risultato positivo per la presenza del bacillo dell'influenza; cioè si ottennero ricche colture di questo microrganismo; e ciò tanto più facilmente quanto più acuto e grave era il decorso della malattia.

Per ottenere questi risultati peraltro era necessario raccogliere una certa quantità di sangue dalla carotide (3-5 cmc.) e lasciarlo nel termostato a 37° C. per 2-3 giorni. Invece colture fatte con piccole quantità di sangue, come si possono ottenere dalla vena auricolare, rimasero sempre sterili.

All'autopsia degli animali morti in seguito alle iniezioni in trachea di culture del bacillo dell'influenza, si notava arrossamento della mucosa della laringe, della trachea e dei bronchi, mucosa che era coperta ancora da una forte quantità di muco. In alcuni casi più gravi si aveva l'esistenza di veri focolai di pneumonite. L'esame batteriologico di questi focolai dimostrò sempre la presenza del bacillo dell'influenza.

All'esame microscopico del polmone si notava nei casi leggieri una bronchite con infiltrazione del tessuto connettivo peribronchiale e in qualche punto anche la caduta dell'epitelio bronchiale. Nei casi gravi poi, oltre alla bronchite, si osservava congestione polmonare, infiltrazioni del connettivo interstiziale perivascolare, e alcune volte veri e propri focolai di pneumonite interstiziale con compressione e obliterazione degli alveoli polmonari. La colorazione col metodo Löffler rivelava la presenza di numerosi bacilli all'intorno dei bronchi, o bacilli che nei focolai pneumonici erano riuniti in accumuli di varia grandezza.

Piccole quantità di colture in sangue deposte sulla mucosa nasale sia intatta che precedentemente lesa, inducevano in alcuni casi una leggiera rinite che non ho visto diffondersi mai alle altre vie respiratorie.

In una seconda serie di esperimenti mi prefissi di determi-

nare l'azione patogena del bacillo dell'influenza sulle varie sierose. L'animale da me scelto fu il coniglio e le iniezioni furono praticate sotto la dura madre, nella pleura, nel pericardio, nel peritoneo e nell'articolazione del ginocchio.

Le iniezioni praticate sotto la dura madre sortirono poco effetto: solo in pochi animali mi fu dato notare qualche fenomeno morboso.

L'animale era febbricitante, non mangiava, stava rincantucciato nella gabbia, e si reggeva male in piedi, specialmente camminando. In generale però anche questi fenomeni si dileguavano ben presto: in un solo caso avvenne la morte, forse per qualche accidentalità sopravvenuta durante l'operazione, e in questo caso all'autopsia non potei rilevare altro che un'abbondante raccolta di liquido sotto la dura madre.

Le iniezioni invece praticate nella pleura, con tutte le cautele antisettiche, dettero, in modo costante, risultato positivo. Si aveva febbre, dimagramento, respiro affannoso, e all'autopsia si notava la presenza di un ricco essudato siero fibrinoso che copriva tutta la pleura, e talora, nei casi più gravi, invadeva anche la pleura del lato opposto a quello in cui era stata fatta l'iniezione. Alcuni animali peraltro dopo aver presentato accentuati fenomeni morbosi si riavevano poco a poco e si rimettevano in perfetta salute. Uccidendo qualcuno di questi animali, si osservavano i medesimi fatti notati negli animali che soccombevano. Colture fatte coll'essudato pleurico dettero costantemente risultati positivi per la presenza di bacilli dell'influenza; non mi fu però mai possibile dimostrare in questi casi il passaggio di quei microrganismi nel sangue.

Iniezioni praticate nel pericardio dettero egualmente risultato positivo; in otto o dieci giorni gli animali venivano a morte e nel pericardio si osservava la presenza di un abbondante essudato siero-fibrinoso che colle colture mostrava contenere bacilli dell'influenza. Anche in questi casi peraltro non potei mai osservare il loro passaggio nel sangue.

Le iniezioni nel peritoneo dettero risultati poco concordi. Il primo degli animali operati morì dopo 4 giorni e all'au-

topsia si notò il peritoneo coperto da un diffuso essudato fibrinoso; ma le colture fatte con questo essudato rimasero perfettamente sterili. Altri due animali inoculati presentarono elevazione termica accentuatissima, dimagramento e morirono dopo 20-25 giorni. Anche in questi due casi notai all'autopsia una peritonite circoscritta, ma le colture, come nel primo caso, non dettero luogo a nessun sviluppo di microrganismi. Altri quattro animali egualmente inoculati non presentarono altro fenomeno che un lieve innalzamento di temperatura che si dileguò ben presto in capo ad alcuni giorni.

Negli animali inoculati nella cavità articolare del ginocchio si notò, dopo 2-3 giorni dall'operazione, una tumefazione delle parti molli che ricoprono l'articolazione, tumefazione che andò man mano crescendo e alla quale si aggiunse febbre e inceppamento dei movimenti articolari, che da ultimo furono resi assolutamente impossibili, sicchè l'animale camminava zoppicando. Di cinque conigli così operati, due morirono dopo 15-20 giorni, due sono ancora viventi, benchè continuino a zoppicare manifestamente, e uno fu ucciso dopo che i fenomeni acuti erano completamente cessati.

Nella cavità articolare si osservò la presenza di una grande quantità di liquido che conteneva sospesi piccoli fiocchetti di fibrina, tutte le parti molli circostanti all'articolazione erano tumefatte e le cartilagini semilunari erano fortemente inspessite e avevano perduto la loro lucentezza normale.

L'esame batteriologico del sangue di questi animali fu assolutamente negativo, mentre si ottennero ricche colture del bacillo dell'influenza col liquido della cavità articolare.

Dalle mie ricerche risulta pertanto:

1° *Che nella grande maggioranza dei casi d'influenz scevri da qualunque altra complicazione morbosa, si tro sempre nel sangue, nel periodo acuto, febbrile, un micr ganismo speciale.*

2° *Che questo microrganismo nel massimo sviluppo*

nelle migliori condizioni di vita, si presenta come un bacillo corto e sottile, ad estremi arrotondati, mentre in fasi meno avanzate di sviluppo, o in condizioni di vita meno favorevoli, può assumere altre forme microscopiche di cocco, diplococco, o streptococco.

3° *Che questo bacillo coltivato nel sangue dell'uomo e del coniglio vegeta meglio che in qualunque altro mezzo di nutrizione e conserva in quello tutta la sua azione patogena.*

4° *Che questo microrganismo è patogeno per il coniglio e per la cavia, determinando bronchite e polmonite se iniettato nell'apparecchio respiratorio, essudato siero-fibrinoso se iniettato nelle sierose (pleura, pericardio, ecc.).*

Sento infine il dovere di esprimere i sentimenti della mia più viva gratitudine al Prof. Tizzoni che nelle mie ricerche mi fu guida affettuosa e premurosa.

Bologna, 1° Luglio 1892.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1ª. — Bacillo dell'influenza; forma di bacillo da coltura in sangue di cinque giorni. Leitz. obb. Pant. 2mm oc. V.

Fig. 2ª. — Bacillo dell'influenza; forma di diplococco da coltura in agar di tre giorni. Leitz. obb. Pant. 2mm, oc. V.

Fig. 3ª. — Bacillo dell'influenza; forma di cocco da coltura in agar di dieci giorni. Leitz. obb. Pant. 2mm, oc. V.

Fig. 4ª. — Bacillo dell'influenza; forma di streptococco da coltura in brodo di sei giorni. Leitz. obb. Pant. 2mm, oc. V.

Fig. 5ª. — Bacillo dell'influenza; bacilli contenuti nei leucociti: da colture in sangue di 2 giorni. Leitz. oc. Pant. 2mm, oc. V.

Fig. 6ª. — Bacillo dell'influenza; colonia di sei giorni da una coltura in tubi secondo il metodo Esmarch. Ingrand. 330.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 20.

Laboratorio della Clinica Medica di Torino
diretto dal Prof. Bozzolo.

SULLA MORFOLOGIA DEL BACILLO DEL TETANO

PER IL

Dott. S. BELFANTI

Assistente.

(Tav. X)

Nel Marzo 1889, col collega Dott. Pescarolo io riferivo alla R. Accademia di Medicina in Torino sulla *morfologia del bacillo del tetano*, asserendo d'avere primi fra tutti ottenuto la cultura pura del bacillo, negando con questo la simbiosi necessaria, secondo Rosenbach, al suo sviluppo; cultura che sgraziatamente però, inoculata, non produceva il tetano negli animali. D'allora noi asserivamo che la cultura del bacillo di Nicolajer cresceva indifferentemente all'aria o nei gas, ma con forme diverse; si sviluppava cioè *anaerobicamente come bacillo capocchiato*, *aerobicamente* invece *con una forma coccacea;* soggiungevamo poi nella nostra nota preventiva che lo studio evolutivo, *dalla forma di cocco alla bacillare ci era stato fino allora impossibile.*

Nel mese di Aprile dell'anno stesso ritornammo sul nostro asserto specialmente perchè il Tizzoni insieme colla D.ssa Cattani era sorto vendicando una priorità che non esisteva.

Nello stesso mentre il Kitasato a Berlino annunziava al-Accademia i suoi felici risultati sulla cultura pura del bacillo i Nicolajer dettandone i principali caratteri di sviluppo

controllati da tutti gli altri studiosi venuti dopo, e prima da noi nel Maggio dello stesso anno. Colle sue culture il Kitasato riproduceva il tetano tipico negli animali, cosa da noi, nè dal Tizzoni fino a quei giorni ottenuta.

Nella nostra nota del Maggio, avendo fortunatamente avuto nuovo materiale attivo da un altro caso di tetano, riproducemmo a nostra volta la fenomenologia della malattia negli animali confermando quanto aveva detto Kitasato, ma per di più concludendo che: *il bacillo di Nicolajer, date certe condizioni biologiche intimamente legate alla natura dell'ambiente in cui si coltiva, può avere vita aerobica ed anaerobica, e nei mezzi aerobici assumere diverse forme, dalla coccacea alla bacillare.*

Questa asserzione parve ai più, anzi a tutti erronea. Ci fecero allora colpa, non sapendo come meglio e più facilmente spiegare la cosa, che le nostre colture fossero impure e che il tetano dato agli animali colle colture aerobie provenisse da qualche spora passata così, per poca nostra attitudine nella selezione delle colonie, da coltura in coltura.

Tutti quelli che si occuparono dello sviluppo del bacillo di Nicolajer da Kitasato in poi, stereotiparono i caratteri da lui dati ad esso e lo illustrarono in vario modo con pochissime novità però dal lato morfologico.

Il Tizzoni (1) colla D.ssa Cattani descrive due forme di bacillo del tetano: l'uno caratterizzato specialmente da una sporificazione ovalare, l'altra da una tonda, amendue però terminali; l'una darebbe un tetano acuto, l'altra uno cronico. Questa distinzione, da quanto vedremo anche morfologicamente, non ha ragione di essere.

Sanchez Toledo (2) e Veillon illustrarono anch'essi la morfologia del bacillo con poca novità; così pure Verhoogen e Baert.

---

(1) Tizzoni, Cattani Giuseppina, Baquis, *Beiträge zu Path Anat. und allgem. Pathologie*, Bd. VII.

(2) Sanchez Toledo e Veillon, « Recherches sur le tétanos » (*Achives de Médecine expérimentale*, 1890).

La monografia più bella e più completa per quello che concerne il tetano specialmente nei suoi prodotti tossici è quella di Waillard e Vincent (1), ma anch'essi ripetono gli altri su quello che riguarda lo sviluppo del bacillo.

Qui non posso passare oltre senza accennare a due precedenti lavori fatti in Italia sulla eziologia del tetano e che forse potrebbero essere spiegati dalle ricerche da me fatte; questi studi sono quelli del Rattone e Ferrari e del Lampiasi.

I primi, Ferrari e Rattone (2) in un caso di tetano insorto in donna operata d'ovariotomia, avrebbero potuto isolare dal sangue del dito uno stafilococco che coltivato anaerobicamente ed inoculato quindi negli animali (conigli) li avrebbe uccisi con tetano classico. Da queste esperienze gli Autori conchiudono che l'agente infettivo del tetano era lo stafilococco da loro scoperto.

Il Lampiasi (3) dà un'esatta descrizione di un bacillo sporigeno, mobile, aerobio, che non liquefà la gelatina, che sporifica in capo a 10-15 giorni, con spora ovalare, e che secondo l'A. avrebbe dato il tetano in molti animali.

Merita qui ricordare che molti presero per bacillo del tetano un bacillo descritto da me e Pescarolo nel 1888 e da noi trovato in un caso di questa malattia, ma che inoculato negli animali non diede mai il vero tetano; bacillo che *noi non abbiamo mai asserito essere l'agente di questa malattia.*

Dal 1889 in poi, come dissi, nessuno ha potuto confermare le osservazioni sulle forme del bacillo del tetano descritte da me e dal Pescarolo. Da quel tempo io non ho cessato di studiare questo bacillo, ed ora, dopo tre anni, credo opportuno rendere di pubblica ragione il mio studio sulla sua morfologia, pienamente soddisfatto di non avere trovate erronee le nostre antiche vedute.

---

(1) Waillard e Vincent, « Contribution à l'étude du tétanos » (*Annales de l'Institut Pasteur,* Gennaio 1891).

(2) Ferrari, *Archivio ed atti della Società Ital. di Chirurgia,* 1887.

(3) Lampiasi, *Giornale internazionale di Scienze mediche,* 1888.

Le fonti da cui ho ricavato il bacillo del tetano da me studiato sono due casi della malattia, che datano dal 1889. Amendue le culture furono mantenute d'allora di trapianto in trapianto, virulente ed aventi gli stessi caratteri. La cultura del bacillo direttamente dalla terra che produce il tetano fu da me tentata, e sebbene io abbia ottenute colonie e forme morfologiche assolutamente simili a quelle che io tengo e che sono di bacillo del tetano, non ho potuto averne, almeno fino ad ora, di quelle virulenti. Ma anche di questo spero venire a capo.

Prima di passare alla descrizione delle varie forme e colture toglierò un dubbio che può sorgere nella mente di chi legge e di cui gratuitamente mi si fece già colpa nelle prime comunicazioni, della purezza cioè delle colture. Queste, come dissi, provengono dal 1889 di trapianto in trapianto, di colonia in colonia, fino ad oggi, e lo sviluppo è sempre identico da cultura a cultura; questo bacillo fabbrica per *strisciamento su agar-agar*, come quasi sempre lo coltivo io, la tossina del tetano, la qual cosa sarebbe impossibile se fosse un *anaerobio obbligato, e se da tre anni persistesse ancora qualche spora nei miei trapianti*; poichè uccido gli animali con filtrati di 24 ore.

Caratteri delle colture aerobie.

Il bacillo del tetano coltivato aerobicamente ha una vitalità grandissima anche se lasciato senza trapianto per lunghissimo tempo. Una coltura del 30 luglio 1890 trapiantata il 12 novembre 1891, ossia quasi un anno e mezzo dopo era ancora *viva* ed *attivissima* come se fosse fresca di 4 giorni. Coltivandolo su di agar-agar inclinato alla temperatura di 37° sei ore circa dopo la semina, le colonie del bacillo sono già visibilissime ad occhio nudo, 24 ore dopo la cultura è rigogliosa. Le colonie isolate sono trasparenti pellucide a contorni regolari e finissimamente granulose; nell'ulteriore sviluppo confluiscono facilmente dando una pattina a tinta biancastra.

Sul principiare dello svolgimento della colonia i bacilli non sono intieramente legati tra loro e si può esportare una minima parte di essa; ma dopo due o tre giorni hanno una forte adesione per una sostanza mucosa che si può sciogliere con acqua; sostanza la quale fa sì che facciansi dei filamenti lunghissimi quando si tenti di esportare un tantino della cultura.

Da questa forma di colonie che è l'ordinaria si può anche passare ad altre trasparenti come le precedenti, ma più rilevate sulla superficie dell'agar-agar e ombellicate nel mezzo come quelle della difterite ed allora la colonia è costituita da straterelli concentrici.

Le colture molto vecchie assumono un colorito giallastro sporco, la sostanza filamentosa è così tenace che è difficile sbrogliare l'ago di presa senza guastare tutta la coltura. *Questa sostanza agglutinante può essere scarsissima in molte colture dove la virulenza è grande.*

Le sostanze volatili che l'attività del bacillo fa svolgere dai mezzi nutrizii hanno odore di crosta di formaggio non isgradevole, come quello che emana dalle gelatine liquefatte e dai brodi. I gas svolgonsi in piccola quantità dalle culture in agar-agar inclinato ed il principale è l'ammoniaca, che può essere molto abbondante, non però quale deriva dalle culture in brodo. *In generale però l'aumento di alcalinità dei substrati nutrizii è dovuto al gas ammoniaco.*

Nello svolgersi del tossico, come anche nel sospendersi la moltiplicazione dei bacilli in una coltura, l'ammoniaca deve essere un fattore essenziale. Arrivato ad un certo limite di saturazione d'ammoniaca è sospesa la vitalità del bacillo.

Esaminando microscopicamente una particella di cultura in agar-agar si trovano diverse forme a seconda dello stadio in cui si esamina. Dopo 12 ore circa di coltivazione a 37° C. essa è costituita unicamente *da forme coccacee appena allungate riunite due a due*, come fossero diplococchi, attorno ai quali appare un leggerissimo alone chiaro. Dopo un giorno o due di coltura a 37° le forme precedenti si fanno più lunghe, si vedono bacilli a margini rettilinei e molti rigon-

fiati alle due estremità, a biscotto od a manubrio. Le forme bacillari si scorgono in ispecial modo nell'acqua di condensazione e dove il substrato è più umido, nelle parti alte invece sono maggiormente numerose le forme coccacee; queste in generale hanno uno spazio chiaro poco colorato nel mezzo.

Dopo 3-4 giorni di termostato, nell'acqua di condensazione delle provette di cultura si scorgono dei bacilli sporigeni, a spora terminale leggermente ovalare traslucida, cui segue, come dissi, un bacillo lungo 4-5 volte la spora; talora invece scorgesi come una coda poco colorabile, frangiata, coda che qualche volta è appena visibile per colorito molto pallido.

Nelle culture per strisciamento in agar-agar la forma classica della grossa spora terminale colorata non è frequentemente visibile; benchè la si trovi anch'essa e non molto di rado. La spora è perfettamente rotonda, non colorabile, e in seguito si colora, sebbene ancora aderente al bacillo sporigeno; altre volte invece vedonsi qua e là per il preparato le spore rotonde libere senza bacillo.

In quali condizioni si ottenga questa forma piuttosto che l'altra non saprei ora bene pronunciarmi, ma è certo che l'una forma e l'altra provengono da una cellula vegetativa che è la stessa per ambedue, quindi è inutile la distinzione fatta dal Tizzoni e dalla Cattani.

Nelle vecchie culture in agar-agar la forma bacillare è scomparsa e non rimane se non la forma coccacea con cocchi poco colorabili ed in generale, come dissi, col centro più chiaro che non la periferia.

Fin qui il polimorfismo è ben poca cosa in paragone ad altre forme che si riscontrano nelle culture per strisciamento in agar-agar. I lunghi filamenti sono comuni nelle ordinarie colture, e questi furono descritti da tutti coloro che studiarono il bacillo del tetano; che anzi C. Fraenckel nel suo trattato di batteriologia dice *ch'esso cresce in lunghi filamenti e non lascia chiaramente vedere i punti di separazione dei diversi segmenti.*

Anche nelle culture aerobie questi filamenti sono una norma,

specialmente nelie parti più umide della cultura. Essi sono dapprima rettilinei e vanno in seguito attorcigliandosi, allungandosi, presentando un'intricata matassa della quale è impossibile scorgere i capi. Dai lati di questi filamenti partono talora delle corte ramificazioni come fossero gemme staccantisi dall'asse vegetativo, tal'altra dandone altri con una vera dicotomizzazione. Tratto, tratto, lungo questi fili si notano degli ingrossamenti, dei rigonfiamenti tondeggianti colorabili che, quando sono alla estremità, ricordano il bacillo capocchiato.

Il protoplasma di questi filamenti è perfettamente omogeneo sul principio, colorabile, ma invecchiando impallidisce, si segmenta e dentro ai segmenti si notano le spore eguali a quelle dei bacilli e ad ogni spora sta attaccata una coda residuo del protoplasma del filamento da cui deriva e resta così un vero bacillo spilliforme allineato ancora nella direzione del filamento di cui non si vede se non l'ombra. Le code delle spore non sono tutte orientate in una direzione, ma spesso invece sono opposte, le spore restando l'una contro l'altra.

Dalla tavola unita al presente lavoro gentilmente disegnata alla camera chiara dal Prof. O. Mattirolo, risulta evidente il graduale passaggio dalla forma coccacea primitiva all'ultima filamentosa e sporigena.

La cosa è ancora più chiara e più convincente esaminando i preparati microscopici.

Dalla descrizione fatta risulta evidente una cosa: che cioè dal bacillo del tetano alle specie del genere *streptotrix* ultimamente descritto qui in Italia dal Doria (1), dal Gasperini (2), del Sauvageau e Radais negli *Annales de l'Institut Pasteur*, N. 4, 1892, il passo è brevissimo, e la rassomiglianza di sviluppo delle forme del gruppo a questo bacillo è completa, bastando gettare uno sguardo ai disegni che ac-

(1) Rulli Rossi Doria, *Annali dell'Istit. d'Igiene speriment. dell'Università di Roma*, vol. I, fasc. IV, 1892.

(2) Gasperini, *Rivista gen. Italiana di Clinica Medica*, 1892.

compagnano questo lavoro e a quelli fatti per illustrare l'*actinomices* od il genere *oospora* di Sauvageau.

Quando e perchè compaiono queste forme filamentose e questo genere di vegetazione? La risposta per ora non è facile. Dirò che dal tempo che studio questo sviluppo l'ottenni solamente in 2 epoche: nella primavera dell'anno passato e di questo anno. L'anno scorso restai dubbioso sulla evoluzione di queste forme, vedendole ripetersi nello stesso modo e con maggiore evidenza quest'anno, non ebbi più dubbio alcuno.

Dal detto risulta anche che le forme descritte non sono le *involutive* di Naegel e Buchner, che sarebbero voluminose, prodotte da uno sviluppo malaticcio e segni di una regressione; forme che riscontransi nelle culture antiche di tetano.

Culture in agar-agar per infissione.

Le colture in agar-agar per infissione hanno questo di caratteristico che il maggior numero delle volte il bacillo non cresce lungo la puntata, ma soltanto in superficie con una patina biancastra leggermente trasparente pellucida a contorni ondulati.

Qualche volta però cresce anche lungo la linea d'infissione ed allora si ha una ricca ramificazione di barboline che staccansi dalla colonna centrale; simile a quella classica descritta per le culture anaerobie.

L'esame microscopico è identico a quello già veduto; salvochè nel profondo prevale sulla coccacea la forma bacillare.

Cultura in gelatina.

I caratteri di sviluppo sovra la gelatina inclinata per istrisciamento ed infissione non hanno di notevole se non una linea biancastra piuttosto rilevata, leggermente iridescente per luce riflessa.

Lungo la linea di puntata nelle culture per infissione si riproduce il fatto della maggiore vegetazione in superficie. La

cultura rarissimamente fluidifica la gelatina quando si svolge in superficie.

Facendo delle culture disseminate in questo mezzo nutrizio le colonie crescono non nel profondo ma vicine alla superficie, colonie piccole, biancastre, irregolari, finamente granulose se esaminate al microscopio; spesso con un nucleo centrale più oscuro.

A volte la peptonificazione della gelatina incomincia soltanto un mese e più, dopo la semina, a volte non si osserva mai. Questo fatto fu già notato da altri che studiarono il bacillo del tetano, assicurando anzi che il potere tossico del bacillo del tetano è legato al suo potere pepsico; e che quindi il *bacillo attenuato non fluidifica se non con enorme lentezza, o non fluidifica affatto* (Tizzoni e Cattani; Vaillard e Vincent). Vedremo però più avanti come quest'asserzione non sia giusta riguardo al legame che passa tra il potere peptonizzante ed il tossico.

L'esame microscopico di queste culture in gelatina ci rileva caratteri poco diversi da quelli in agar-agar; salvo che nelle culture fresche la forma a cocco è più spiccata, per cui ad un'osservazione superficiale e poco prolungata sembra d'avere sott'occhio una volgare cultura di cocchi. Nelle vegetazioni un poco più vecchie, 2-3 volte 24 ore, il cocco, che prima era colorabilissimo, non lo è più se non ai margini e vi si scorge una parte centrale molto più pallida.

Le forme a lungo bastoncino ed a spora terminale non si vedono mai nelle culture in gelatina che non fluidificano, si trovano invece numerose quando la gelatina diventa fluida; ed allora la cultura assume un odore spiacevole di putrido e di ammoniacale.

Cultura in brodo ordinario.

Coltivato in brodo il bacillo del tetano si va avvicinando sempre più al suo modo di sviluppo anaerobio.

Perde subito la forma coccacea per assumere quella di un

grosso e lungo bacillo ad estremi tondeggianti che intorbida fortemente il brodo svolgendo un nauseabondo odore d'acidi volatili e di ammoniaca. L'intorbidamento va crescendo finchè si depone sul fondo del recipiente di cultura un denso strato biancastro aderente a se stesso, costituito da bacilli, filamenti, bacilli sporigeni e spore libere.

Lasciando molto tempo a se stessa una cultura in brodo senza trapiantarla, il bacillo si fa strettamente anaerobio e non c'è più modo di farlo crescere per strisciamento su agar-agar.

L'ammoniaca svolta dalle culture in brodo è grandissima e incomincia già nelle prime dodici ore dopo la semina. Fin'ora per cause non da me dipendenti non ho potuto fare il dosaggio di tutto l'NH_3 svolta, studio che deve avere un'importanza grande nello sviscerare il modo di produzione della tossina dalle albumine di nutrizione.

Culture in brodi diversi.

Lo sviluppo morfologico del bacillo di Nicolajer nei brodi fatti solamente con un'*alcali albumina*, sia ricavata dallo siero di sangue, che dall'uovo, *con caseina*, *fibrina* (modi di cultura di cui parlerò in altra mia nota e fatti per lo studio della tossina), non presenta caratteri diversi dai descritti. Dirò solo che lo sviluppo in *alcali albumina* è nullo, scarso e lentissimo in *caseina*, molto abbondante in *fibrina* con peptonizzazione di essa.

Per la morfologia dirò solamente ancora che i brodi *addizionati di sali di ammonio* sono quelli in cui ho potuto vedere più abbondanti le forme *setolose capocchiate del bacillo*. In questi mezzi speciali si scorgono bacilli finissimi a spora terminale tondeggiante.

Cultura in siero di sangue coagulato.

Sullo siero coagulato a piano inclinato cresce abbondantissimo con svolgimento di gas ed odore di putrefazione. La cultura su siero è molto elegante; perchè dalla linea centrale di strisciamento partono tante piccole barboline che si dirigono verso la parete del tubo. L'esame microscopico non ha nulla di diverso dalle altre culture, salvo forse più spiccata la forma coccacea nei primi tempi di vegetazione.

Tra gli autori che studiarono precedentemente il bacillo del tetano vi è divergenza su questo punto; cioè se esso *fluidifica o non fluidifica lo siero coagulato*. Kitasato, Macé, ecc. negano la peptonizzazione; Tizzoni colla D.ssa Cattani ammetterebbero questa fluidificazione dello siero quando il bacillo del tetano è attivo; mentre esso non fluidificherebbe più quando è attenuato od ha perduta la virulenza.

In generale il bacillo del tetano non peptonizza lo siero coagulato; dissi in generale perchè anche qui avviene come per la gelatina che talora si ramollisce, tal'altra no.

Tra il Tizzoni ed il Kitasato vi fu dibattito per questo punto; a me non par siavi ragione valida di divergenza su di ciò, pensando che il fermento che peptonizza la gelatina può benissimo intaccare un altro albuminoide quale è lo siero coagulato. L'enzima peptonificante del carbonchio, dello spicillo del colera, che fluidifica la gelatina, fluidifica anche, benchè più lentamente lo siero di sangue.

Dacchè mi torna opportuno dirò qui, come il Tizzoni ed il Waillard attribuiscano a questo potere peptonizzante un grande valore per la virulenza del bacillo; che anzi il Waillard opina che questo *enzima che fluidifica la gelatina non possa essere altro che il tossico*. Per la conoscenza della tossina e per la teoria enzimatica la cosa sarebbe elegante. Ma i fatti non camminano in questo modo.

L'enzima peptico ed il potere tossico sono due cose ben distinte. La maggior parte delle mie culture aerobie non flui-

dificano la gelatina e nondimeno sono fortemente tossiche; d'altro lato ho avute ed ho ancora delle culture in cui il bacillo fluidifica abbondantemente senza che esse siano virulente. Questi due poteri possono camminare di conserva od esserne separati. Una cultura non fluidificante può rendersi tale per varie generazioni facendola crescere in gelatina dove vi sia l'enzima peptonificante del *proteus vulgaris*, e quindi trapiantandola. Se si filtra una cultura di *proteus vulgaris*, questo filtrato messo con gelatina la fluidifica; se ora in questa gelatina si coltiva il bacillo del tetano che ha perduto il potere peptonizzante, e poi lo si trapianta, egli riacquista con questo modo il suo potere.

Dalla *forma aerobia*, come dissi, *si può passare* alla *anaerobia assoluta lasciando una cultura in brodo lungamente a sè, nell'ambiente fortemente ammoniacale di cui si circonda.*

Mi dispenso dal fare la descrizione delle culture anaerobie nei varii mezzi; perchè coloro che mi precedettero e specialmente il Tizzoni colla Cattani e Baquis diedero di esse un'ampia descrizione con microfotogrammi.

Mi basta aver posto in luce e confermate le esperienze mie e del collega Dott. Pescarolo del 1889, e dimostrato il ciclo evolutivo del bacillo del tetano, che può crescere e svilupparsi rigogliosamente all'aria e quindi sulla superficie della terra, sicchè non havvi bisogno di ricorrere ad un'origine equina, nè ad un'origine fecale per spiegare la moltiplicazione delle spore del bacillo del tetano sparse ovunque; tanto più che colle esperienze di Waillard e Vincent per il tetano, di Penzo (1) per il bacillo dell'*edema maligno*, noi conosciamo ora l'importanza che può avere l'associazione di alcuni microrganismi del suolo sull'aumento della loro patogenicità.

Il bacillo del tetano è quindi un bacillo polimorfo non nel

(1) Rodolfo Penzo, « Contributo allo studio dell'edema maligno » (*Accad. Lincei*, vol. VII, fasc. 6, 1891).

senso di Naegeli e di Zopf che per così dire negavano la specie, è polimorfo dentro un dato limite che è il suo *ciclo di sviluppo.* Di molte specie *noi non conosciamo ancora questa continuità dello sviluppo e probabilmente varie forme sono sotto la dipendenza di una.* Nel caso del tetano, oltre alla sicurezza che ho nell'aver viste passare successivamente da una all'altra le varie forme nelle culture pure, criterio morfologico sicurissimo, ho anche il criterio fisiologico che appoggia il precedente, potendosi produrre sia con una forma che coll'altra il tetano negli animali. In questo caso alla variabilità morfologica corrisponde una fissità funzionale.

Il bacillo del tetano è un *anaerobio facoltativo* cioè può vivere o non all'aria; noi possiamo farlo diventare anaerobio assoluto obbligandolo a crescere ripetutamente e per un certo tempo nel vuoto e nel gas idrogeno, lasciandolo nelle culture in brodo dove precipita al fondo fuori del contatto dell'aria, coltivandolo in gas ammoniaco; in questi casi il trapianto nell'aria riesce impossibile. Qualche volta avviene nelle culture per istrisciamento in idrogeno o nel vuoto che il trapianto nel primo momento non riesce affatto, mentre lasciando questa cultura per istrisciamento qualche giorno a contatto coll'aria avviene che il trapianto allora è possibile. Il brusco passaggio da un ambiente ad un altro non è indifferente per il bacillo del tetano. Spesso ho osservato avvenire la cosa inversa; cioè che il bacillo cresciuto per molte generazioni in agar-agar a piano inclinato coltivato in H o nel vuoto non dà quasi segno di vita, mentre torna a vegetare se gli si dà ossigeno. Le culture in gas o nel vuoto da me fatte presentano una assoluta garanzia per l'anaerobicità, perchè chiuse alla lampada dopo fatto il vuoto od introdotto il gas; questo dico perchè il vecchio metodo di Fraenkel non ne presenta altrettanta per la insufficienza di chiusura.

Le colture fatte con gas misti NH_3 e H si sviluppano colle stesse modalità delle altre.

L'NH_3 è un gas dove il bacillo si sviluppa rigogliosamente producendo molta tossina (quando però questo gaz non sia in misura eccedente), poichè passato appena un dato limite si ha l'arresto non della vitalità ma della vegetazione del bacillo. La quantità di gas ammoniaco per un tubo di agar-agar ordinario a piano inclinato è quella spostata da 5 cc. di acqua, tutto l'apparecchio essendo alla temperatura del Laboratorio. Il tappo di cotone impedisce molto la libera diffusione del gas ammoniaco nel tubo di coltura e bisogna che esso sia pochissimo compresso.

La teoria di Naegeli della variabilità della specie non solo, ma quello che è più della variabilità funzionale non è più ammessa, nel senso, ad es., che il bacillo del fieno possa essere il bacillo del carbonchio...., ma allargando un poco più la stretta cerchia dove ci avevano immobilizzati, possiamo riconoscere che uno stesso microrganismo può avere una funzionalità diversa.

Abbiamo visto nel caso particolare che il bacillo del tetano può peptonizzare la gelatina fluidificandola, come gli può mancare questa proprietà ritenuta fino ad ora importantissima nella distinzione della specie, proprietà che può essere perduta indifferentemente per il bacillo. Quello che si è detto del potere peptico si può dire del tossico.

Tutto questo per dimostrare come sia variabile ed elastica questa immutabilità della specie come è intesa fino ad oggi.

Riassumendo quindi, i caratteri principali del bacillo del tetano sarebbero i seguenti:

2° Il bacillo di Nicolajer è un anaerobio facoltativo;

2° nello sviluppo all'aria cresce con forme diverse da quelle delle culture in gas H ed ordinariamente si sviluppa in forma bacillare corta;

3° nelle culture in presenza di ossigeno si moltiplica in

generale per scissione più che per sporificazione, benchè sia frequente anche questo modo di riproduzione;

4° nei liquidi e nei gas specialmente in idrogeno si moltiplica per spora;

5° il bacillo del tetano è pleomorfo nei limiti descritti;

6° può fluidificare, o non, i mezzi di nutrizione, e la fluidificazione non è legata al potere tossico del bacillo;

7° il bacillo di Nicolajer tanto all'aria che nei gas produce un identico tossico che uccide gli animali con tetano classico.

Torino, 29 Giugno 1892.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1. — Forma coccacea del bacillo del tetano nelle prime ore di sviluppo alla temperatura di 37° C.
Fig. 2. — Forma diplococcica allungata dopo 48 ore.
Fig. 3. — Bacillo dopo 3-4 giorni di cultura.
Fig. 4-5-6-7. — Forme allungate e filamentose dello stesso bacillo.
Fig. 8. — Sporificazione dei filamenti.
Fig. 9. — Bacilli del tetano liberi.

Istituto di Patologia Generale della R. Università di Pisa.
(Prof. G. Guarnieri).

SULLA STRUTTURA DI ALCUNI EPITELIOMI

NOTA

DEL

Dott. **Arnaldo FUMAGALLI**

(Tav. XI)

Nell'esaminare diversi casi di epitelioma degli annessi oculari mi è occorso di vederne due nei quali si presentavano con una evidenza, veramente maravigliosa, molte delle *forme cellulari* descritte in questi ultimi tempi e sulla interpretazione delle quali ancora esiste discussione. Queste condizioni favorevoli mi hanno deciso a pubblicare la presente nota, sicuro di non far cosa inutile nel portare su di una questione così importante un modesto contributo.

I.

Fino dall'anno scorso, esaminando al microscopio una non ben definita neoplasia della congiuntiva, mi avevano colpito *forme cellulari* analoghe a quelle descritte allora dal Malassez come *psorospermi*, ma la prudenza, il dubbio e la novità di tali studi mi determinarono a tenere in sospeso l'argomento, che tosto ripresi, visto il succedersi dei lavori d'autori stranieri ed italiani.

Tra questi ultimi, il Prof. Foà descrive, in due sue note, forme nuove incluse nel protoplasma di cellule di un cancro della mammella e del polmone, forme che l'A. considera quasi affermativamente, come parassiti.

Il Dott. Sgrosso trovò in due, fra dodici epiteliomi oculari esaminati, dei corpi intracellulari che « per forma occupavano « un posto intermedio fra i psorospermi descritti finora ed i « plasmodi della malaria e che l'A. ritiene come veri parassiti « in diversi stadî biologici ».

Dopo la rassegna estesa di Stroebe, mi sembra inutile citare nuovamente tutti i lavori che si riferiscono all'istogenesi ed etiologia del carcinoma; rimando perciò i lettori a quella memoria pubblicata sul *Centralblatt für Allgm. Path. u. Pathol. Anatomie* (N. 10-11, Juni 1891).

Tuttavia non posso tralasciare un breve cenno bibliografico in proposito, tantopiù che recenti lavori lo impongono.

In seguito alle prove date, con ragione, da molti autori contro l'etiologia bacterica del cancro, non è più il caso attualmente di discutere le teorie di Nedopil, Scheuerlein e Kubasoff. Ed è per questo che altri, pur non dimenticando l'infezione, si rivolsero a nuovi esseri parassitarii e Thoma, Darier, Albarran, Russel, Wickham, Malassez, Syöbring, Pfeiffer, Kossinsky e Michaux descrissero sporozoi od organismi simili in tumori cancerigni.

Ultimamente Soudakewitch in cancri diversi, ma specie della mammella e del pancreas, trovò forme che ritiene veramente parassitarie, appartenenti al genere dei *coccidi* e che vennero classificate come tali anche da Metchnikoff.

Contro questi autori si schierarono però Klebs, Firket, Borrel, Chattock-Ballance, Hansemann ed altri che ritennero queste forme come degenerazioni cellulari, leucociti in deperimento o forme abortive, patologiche di figure cariocinetiche, e recentemente anche il Virchow, in un suo breve articolo, si mette fra questi ultimi autori.

Altri poi, come lo Stroebe e lo Steinhaus, limitandosi a descrivere le forme osservate, rimasero incerti sulla loro natura e sul loro significato.

Forse contribuirono a queste diverse vedute, oltrechè la difficoltà dell'argomento per se stesso, anche le diverse condizioni di ricerche nelle quali si sono posti gli osservatori, e fra queste, i mezzi incompleti di fissazione e di colorazione degli uni, la descrizione non abbastanza esatta e la mancanza di figure degli altri, e fors'anco la non perfetta identità dei processi patologici studiati.

II.

Fra i diversi epiteliomi da me osservati ed accuratamente studiati, mi parvero degni di essere descritti, sotto il nuovo punto di vista delle inclusioni cellulari, due soli: l'uno occupante il *limbus* e la cornea, l'altro la cornea quasi esclusivamente. Ed eccone il relativo studio clinico-anatomico.

Epitelioma del limbus e della cornea.

Grossi Pietro, di Vecchiano, cacciatore di professione, è un vecchio di 78 anni, sano e robusto, che ha sempre goduto buona vista e non ha mai sofferto malattie oculari. Presenta nulla di notevole riguardo all'ereditarietà.

Dieci anni fa, si accorse dell'insorgere di una piccola vegetazione carnosa sul *limbus* congiuntivale interno dell'occhio destro: rimase tale vegetazione stazionaria fino all'estate passata, nel qual tempo cominciò a crescere, raggiungendo in tre mesi le proporzioni attuali, tantochè l'ammalato decise di farsi visitare a questa Clinica Oculistica, dove si presentò il giorno 18 novembre 1891.

Il tumoretto di forma ovale, grosso poco meno di un pisello, era a cavaliere del *limbus* congiuntivale interno dell'occhio destro: distava per 2 millimetri circa dalla carnucola ed occupava per 3 millimetri la congiuntiva e per un millimetro la cornea. Di colorito roseo, finamente mammellonato, non aderiva che lassamente ai tessuti circostanti il punto d'impianto.

Fatta la diagnosi di *epitelioma del limbus* ed avuto riguardo al lento sviluppo del tumore ed all'età del paziente, il Prof. Manfredi si limitò a farne la semplice ma accurata esportazione con un coltellino di Graefe, disseccandolo prima dalla cornea e completando l'escisione verso la congiuntiva colla forbice.

Mediante abbondanti lavature con una soluzione di sublimato 1 : 4000, un punto di sutura e fasciatura al sublimato, la ferita congiuntivale guarì rapidamente in tre giorni. — Ripresentatosi il Grossi nell'aprile, dopo cioè cinque mesi dall'operazione praticata, non presenta traccia alcuna della subita operazione.

Il pezzo, diviso in due metà con un taglio orizzontale, venne indurito parte in soluzione di sublimato (1), parte in liquido di Müller.

Dopo gli opportuni ulteriori trattamenti necessarii, i pezzi vennero inclusi in celloidina e sezionati, antero-posteriormente, col microtomo.

Le sezioni vennero colorate col picrocarmino, col carmino boracico ed alluminoso, coll'ematossilina e colla safranina. I migliori preparati si ottennero dalla colorazione coll'ematossilina, colla safranina e successiva decolorazione in soluzione alcoolica di acido picrico, e dalla doppia colorazione di ematossilina e safranina.

ESAME ANATOMICO.

Il tumoretto ha origine in un tratto limitato dell'epitelio del *limbus* congiuntivale e poggia, schiacciato e lassamente aderente, sulle parti circostanti (cornea e congiuntiva).

Osservata a piccolo ingrandimento la neoplasia risulta essenzialmente di masse epiteliali che dalla superficie si approfondano sotto forma di zaffi fondentisi ed anastomizzantisi in forme più o meno irregolari, che si addentellano con una alberatura, relativamente esile e scarsa di connettivo, percorso da vasi e poco infiltrato. Inoltre essa ha radice diretta sull'epitelio del *limbus* per aderire lassamente alla congiuntiva sclerale da una parte ed alla cornea dall'altra per l'intermezzo

---

(1) La soluzione ordinariamente adoperata nel Laboratorio per fissare i tessuti epiteliali, è della formola:

Sublimato corrosivo	gr.	20
Cloruro di sodio	»	3
Acido acetico	»	3
Acqua distillata	»	400

In questa soluzione pezzi molto piccoli di tessuto vengono tenuti 20 m nuti circa e passati poscia negli alcool graduati con una piccola quantit di tintura alcoolica di jodio.

di scarso connettivo percorso da vasi ed infiltrato da leucociti. Analoga infiltrazione si osserva sotto la congiuntiva sclerale sottostante.

Ai forti ingrandimenti, gli elementi epiteliali, alla superficie della neoplasia, risultano appiattiti e più o meno corneificati. Nelle parti più profonde degli zaffi sono di forma cilindroide, assumono spiccata la colorazione e si dispongono in una stretta e fitta palizzata, circoscrivente gli zaffi, mentre nelle parti intermedie prendono forme svariate. Dove sono ben conservati, in vicinanza cioè alla palizzata come in vicinanza ai più superficiali corneificati, gli elementi mostrano un protoplasma uniformemente colorato, un nucleo tondo od ovale, più o meno grande, e delle fine e corte ciglia che li riuniscono fra di loro (Fig. 16), mentre verso il centro degli zaffi, quasi pel progressivo atrofizzarsi del protoplasma cellulare, pur mantenendosi le ciglia o spine nei loro rapporti, ne risulta un apparente allungamento di queste ciglia sotto forma di lunghi prolungamenti più o meno sottili, che partono dal più o meno scarso protoplasma ancora rimasto per continuarsi con quelli degli elementi vicini (Fig. 14-15). Anche il nucleo va qua e là modificandosi; si fa cioè granuloso, sformato (Fig. 14 *b*; Fig. 15, *g*, *h*), o circondato da una zona più chiara (Fig. 14, *c*; Fig. 15, *l*); altre volte sparisce del tutto (Fig. 14, *d*; Fig. 15, *f*, *i*), o non rimangono di esso nel protoplasma che fini granuli fortemente colorati (Fig. 14, *a*).

Particolarmente poi all'intorno di certi *corpi* importanti, che descriverò fra poco e che avviene di osservare specialmente al centro degli zaffi, gli elementi epiteliali della neoplasia o non appalesano nucleo, o questo assume debolmente il colore, ed il protoplasma dei singoli elementi, ridotto a piccolissima quantità attorno al nucleo, dà luogo, in causa della persistenza delle ciglia sotto forma di prolungamenti anastomizzantesi con quelli delle cellule vicine, dà luogo, dico, ad un aspetto come di reticolo o ragnatela (Fig. 14, *e*).

I *corpi* sopra menzionati e sui quali intendo ora fissare l'attenzione, mi si resero evidenti già nelle prime sezioni colorate col picrocarmino.

Colorai allora le sezioni con varii metodi e trovai questi *corpi* in tutti i preparati. Le mie osservazioni mi permisero di rappresentare questi *corpi* come risultano dalla tavola unita.

Uscito in questo frattempo il lavoro di Soudakewitch *Sul parassitismo delle neoplasie cancerose*, vidi che molte delle mie figure erano press'a poco uguali a quelle disegnate da questo autore.

Trovai tali *corpi* ora liberi, ora inclusi negli elementi neoplasici, ora isolati, ora riuniti in due, tre, o circondati da una capsula (Fig. 5 - Fig. 6, *a* - Fig. 10, *a*) od anche in numero maggiore disseminati in certi spazii fra cellule neoplasiche. La forma loro più comune è quella rappresentata dalla Fig. 3; da *a*, *c*, *d* in Fig. 9, e da *c*, *f*, *h* in Fig. 10. In questo caso constano di protoplasma omogeneo che si tinge intensamente coll'ematossilina e colla safranina, mentre dai colori di carmino è tinto debolmente. Sono quasi costantemente, come già dissi, circondati da una capsula più o meno ispessita e molte volte a doppio contorno (Fig. 1-4; Fig. 7, *a;* Fig. 9, *c*, *b*, *e*). Mancano talora di nucleo (Fig. 9, *a*, *c*, *d*, *f*), forse perchè, stante la sottigliezza delle sezioni non poste in serie, il nucleo è rimasto fuori del taglio; altre volte al posto del nucleo si presenta una chiazza più scura, sfumata (Fig. 10, *c*, *f*), di aspetto anche amiboideo (Fig. 5, *b;* Fig. 6, *b;* Fig. 10, *e*), ovvero esiste un proprio e vero nucleo, tondo, ovale, omogeneo (Fig. 1-3; Fig. 10, *c*, *h*), alle volte reniforme (Fig. 10, *i*) od anche granuloso (Fig. 5, *a;* Fig. 8, *a;* Fig. 12), che si colora con ematossilina e safranina.

Questi nuclei si trovano anche in numero di 4, 5 nell'interno dei *corpi*, talora circondati da una zona più chiara (Fig. 7, *b;* Fig. 8, *c*), o da un sottile contorno che li limita (Fig. 9, *e*).

Una fina sostanza granulosa riempie talora esclusivamente questi *corpi* (Fig. 4), tal'altra in questa sostanza si trova impigliato il nucleo (Fig. 1-2; Fig. 10, *b*), oppure la sostanza granulosa si limita ad un anello intermedio fra il protoplasma omogeneo centrale involgente il nucleo ed una zona periferica trasparente ed incolora (Fig. 12).

Spesse volte il protoplasma è più o meno ricco di vacuoli più o meno grandi ed irregolari (Fig. 8, *b;* Fig. 9, *b*, *g;* Fig. 10, *d*, *g*), circondanti il nucleo o misti a sostanza granulosa (Fig. 11).

Rara è la forma oblunga od a spola di questi corpi (Fig. 1-4), ed in una sola sezione trovai un *corpo* nel quale, fra la capsula ed il protoplasma radunatosi al centro e foggiato a bottiglia, vi erano dei sottili filamenti raggiati (Fig. 13).

I *corpi* descritti, dei quali escludo subito la natura amiloidea od ialina, per le reazioni caratteristiche di queste ultime sostanze che tentai invano nelle sezioni, giacciono talora e più spesso isolati fra gli elementi della neoplasia, talora, come già dissi, disseminati in spazii speciali dove si trovano frammisti ad elementi neoplasici, a grossi granuli fortemente colorati ed a leucociti. All'intorno di questi corpi, gli elementi della neoplasia, in alcuni punti si appiattiscono e si dispongono ad embrice attorno al corpo stesso, mentre in altri punti si diradano dando luogo a quell'aspetto di ragnatela sopradescritto. Quando poi sono intracellulari (Fig. 1; Fig. 8, *a*) deformano la struttura della cellula stessa, che si fa ipertrofica, il nucleo spostato da un lato e compresso diviene reniforme o si altera e scompare del tutto.

III.

La seconda osservazione riguarda un epitelioma corneale che trovai nella collezione istologica del Prof. Manfredi.

Il caso trovasi già descritto clinicamente e microscopicamente in un Rendiconto della Clinica Oculistica di Modena pel triennio 1875-77, in allora diretta dal Prof. Manfredi, ed accuratamente redatto dal Dott. Giulio Saltini.

Riporto per intero l'osservazione quale si trova nel sopranominato Rendiconto a pag. 51.

Epitelioma della cornea. — Asportazione.
Medicature con clorato di potassa. — Guarigione.

Un caso molto interessante di epitelioma alla cornea si è potuto studiare in questa Clinica nel marzo 1876. Appartiene a certo Voltini Morillo, d'anni 30, di Reggiolo, di buona costituzione, addetto ai lavori campestri, che non aveva mai sofferto malattie gravi, nè agli occhi, nè generali, e soltanto da un anno aveva avvertito l'incipiente sviluppo sulla cornea dell'occhio destro di una pellicola biancastra che qualche mese più tardi era giudicata dal medico condotto locale per un pterigio. Accagionandogli in seguito quella pellicola un completo annebbiamento nella facoltà visiva, ricorreva a questa Clinica, dove fu ammesso il 27 febbraio 1876. Presentava il Voltini in tal giorno, oltre ad una leggerissima iniezione pericheratica, la cornea dell'occhio destro ricoperta per quattro quinti di sua superficie da una vegetazione membraniforme, originante insensibilmente alla parte interna del *limbus*, a superficie ineguale e rugosa, sollevantesi per due millimetri circa dal livello della cornea, di un colorito roseo, dovuto ad una fina e fitta vascolarizzazione, per la quale la neoplasia ritraeva l'apparenza macroscopica di un panno tracomatoso molto sviluppato. Appena era possibile traverso un piccolo settore esterno della cornea rimasto in parte trasparente, distinguere il margine pupillare dell'iride che sotto l'uso dell'atropina risultava libero da aderenze. La facoltà visiva era ridotta alla sola percezione ed il paziente non accusava dolori di sorta.

Il Prof. Manfredi, tenuto calcolo dei caratteri clinici della descritta neoplasia emetteva il sospetto di cancro epiteliale della cornea, sebbene in questo caso l'età del malato e la sede della neoplasia, macroscopicamente quasi esclusiva sulla cornea, concorressero invece ad escluderlo. Nel giorno 28 febbraio si praticava l'asportazione della descritta neoplasia disseccandola accuratamente anche a spese del tessuto corneale; detta operazione si accompagnò ad una insignificante emoraggia e non fu seguita da reazione di sorta. La medicatura ha consistito durante i primi giorni nella occlusione, poscia nelle instillazioni di una soluzione satura di clorato di potassa, alternate colle spolverature di questo sale, e nelle quali il paziente insistette anche parecchie settimane dopo dimesso dalla Clinica.

La neoplasia immersa tosto in bicromato e sottoposta all'esame microscopico, tanto per dilacerazione, che per tagli verticali, ma-

nifestò evidente la struttura di un puro e pretto epitelioma ordinario, confermandosi così appieno il giudizio clinico già anteriormente emesso. In seguito di che interessandoci di constatare se la guarigione fosse definitiva, si ebbe cura di far ricerca dopo qualche tempo del Voltini; il quale infatti si ripresentò all'Ambulatorio il 28 febbraio 1877, cioè un anno dopo l'operazione, verificandosi allora il suo occhio tanto bello da non potersi fare un'idea dello stato antecedente. Osservando però accuratamente la cornea all'illuminazione focale, si poteva notare quale postumo della sofferta operazione una leggerissima nubecola nel centro corneale, sfumante verso il settore inferiore interno: congiuntiva sana, acutezza pressochè normale.

ESAME ANATOMICO.

L'esame microscopico a piccolo ingrandimento delle sezioni colorate con picrocarmino ed ematossilina, dimostra come il neoplasma consti fondamentalmente di zaffi epiteliali, irregolari, anastomizzantesi, sostenuti da uno stroma notevolmente scarso di connettivo, povero di vasi.

A più forti ingrandimenti, negli strati superficiali, gli elementi neoplasici appaiono appiattiti più o meno, mentre nelle parti più profonde degli zaffi ricordano benissimo la disposizione dell'epitelio del corpo mucoso di Malpighi. Sono difatti giustapposti gli uni agli altri ed in connessione per fine ciglia, dentellature o spine marginali. Qua e là la disposizione cellulare testè nominata viene ad essere modificata fortemente ed esistono delle disposizioni cellulari ad embrice, vere e proprie formazioni di cipolle epiteliali. È dato inoltre dimostrare che la neoplasia è in attiva proliferazione, poichè qua e là si notano dei nuclei in movimento cariocinetico.

Molte volte poi, nel protoplasma degli elementi epiteliali, appaiono degli spazii incolori, chiari, di forma irregolare e strana, paragonabili alle diverse fasi amiboidee delle cellule bianche (Fig. 17, *d*, *i*). In questi casi il nucleo il più delle volte manca (Fig. 17, *d*), altre volte, ma più raramente è spinto da una parte e si fa reniforme (Fig. 17, *b*).

Si osservano pure, fra gli elementi epiteliali di questa neo-

plasia, dei *corpi cellulari* a doppio contorno con più nuclei interni circondati da una zona di sostanza granulosa (Fig. 17 *a*), oppure con dei più o meno numerosi vacuoli del tutto simili a quelli già descritti nella 1ª osservazione (Fig. 17, *f*).

Vi si rinvengono inoltre, come nel caso antecedente, altre forme di *corpi cellulari* che constano di un grosso nucleo granuloso con nucleolo e nucleolino, circondati da un protoplasma ialino, che a sua volta è avvolto da una evidente capsula. Attorno al *corpo* cellulare così conformato esiste quasi sempre un involucro di più strati di elementi epiteliali stipati, appiattiti e giustapposti l'uno all'altro a guisa di embrice, nei quali si riconoscono ancora i nuclei sformati in varia guisa (Fig. 17, *e*, *h*).

IV.

Dalle descrizioni sopra riassunte e dalle figure disegnate nella tavola annessa si è portati a fare varie riflessioni.

Primieramente alcuni di questi *corpi* farebbero dubitare trattarsi di degenerazioni, ma abbiamo già visto come e perchè si differenziano da esse.

Non si possono nemmeno confondere coi così detti *corpi perlacei* giovani, che pure si osservano nelle stesse neoplasie e che appaiono ben differenti per aspetto, struttura e colorazione.

L'avere poi trovato questi *corpi cellulari* in due soli, dei diversi casi di epitelioma da me studiati, farebbe concepire il sospetto, l'ipotesi di due differenti e distinti processi patologici, sospetto già forse nato al Prof. Manfredi nella diagnosi dell'epitelioma corneale descritto.

E parecchi fatti invero starebbero in favore di questa ipotesi e cioè:

1° L'aspetto macroscopico, il lentissimo sviluppo, una certa resistenza ad ulcerarsi ed il non riprodursi;

2° Il loro aspetto microscopico, che, per quanto comune

a prima vista cogli altri epiteliomi, pure differenzia in parte da questi per i noduli e zaffi poco pronunciati e scarsissimo connettivo interposto, per le modificazioni particolari di struttura degli elementi epiteliali costitutivi, e per i *corpi cellulari* caratteristici che non mi avvenne di trovare in alcuno degli altri epiteliomi delle palpebre e della congiuntiva da me studiati.

Ripeto che è solo un'ipotesi che faccio, poichè a decidere tale questione, oltrechè scarse le mie osservazioni, sono anche insufficienti, perchè mancano tutte di uno studio completo istologico, continuo e ripetuto attraverso alla evoluzione clinica di questi neoplasmi, studio dal quale unicamente possono essere messe in evidenza le note differenziali fisiopatologiche dei diversi processi, se pur esistono.

Comunque sia per essere risolta tale questione, molte probabilità poi militano per la natura parassitaria (*coccidii*) delle accennate e descritte *forme cellulari*, tantopiù se si sta a quanto dicono Soudakewitch e Metchnikoff ed altri autori che si occuparono di tali studi, e se si pensa alla struttura di questi *corpi*, alla loro spessa capsula ed al contenuto protoplasmatico speciale.

Le forme diverse descritte poi da varii autori potrebbero fare pensare ad altre specie di parassiti. Il non avere trovato, di questi, tutti gli stadii biologici, potrebbe essere causato, come dice Metchnikoff, dal non avere gli autori studiato i pezzi sul vivo, prima dell'ablazione della neoplasia, nella quale mentre essa è sempre unita all'organismo vivente, i parassiti vi compiono probabilmente i loro stadii evolutivi. Lo studio dei pezzi induriti, dice lo stesso autore, non è sufficiente per schiarire queste principali questioni.

Che non si sia potuto inoculare il carcinoma dall'uomo agli animali, secondo Metchnikoff, dipenderebbe da che questi parassiti sono molto delicati e ciascuna specie di essi non sarebbe capace di vivere che in una particolare specie di cellule, l'una determinata specie animale. Ed io modestamente aggiungerei: se pure i parassiti in questione invece di essere

la causa della neoplasia non vi penetrino accidentalmente per trovarvi un terreno opportuno al loro sviluppo.

Metchnikoff dall'analogia dei *corpi* trovati nei carcinomi, coi coccidii dei conigli, penserebbe alla natura miasmatica di questa malattia, che verrebbe diffusa per spore formate al di fuori dell'organismo.

Ad onta di opinioni così autorevoli, resta tuttora molto dubbio, malgrado i fatti già osservati da altri e queste mie osservazioni personali, se veramente queste *formazioni cellulari* sieno da interpretarsi per parassiti.

Per decidere una tale questione occorre una quantità grande di fatti e di accurate osservazioni da cui poter trarre induzioni che reggano ad una sana critica.

Fra i fatti che serviranno di fondamento a determinare la natura di questi *corpi* e la loro influenza nella fisiopatologia dei carcinomi, voglio sperare possano prendere posto anche queste mie modeste osservazioni.

Mi sento in dovere, prima di chiudere questo lavoro, di ringraziare vivamente il Prof. G. Guarnieri, che mi ha diretto in queste ricerche, ed il Prof. N. Manfredi, che me ne fornì il materiale clinico ed anatomico.

Pisa, Luglio 1892.

Bibliografia.

Saltini, « La Clinica Oculistica di Modena nel triennio 1875-76-77. Quadri statistici e note cliniche » (*Annali d'Oftalmologia*, anno VII, fasc. 2 e 3).

Stroebe, « Neuere Arbeiten über Histogenese und Aetiologie des Carcinoms » (*Central. für Allg. Path. u. Pathol. Anatomie*, N. 10-11, Iuni, 1891).

— « Zur Kenntniss verschiedner cellulärer Vorgänge und Erscheinungen in Geschwülsten » (*Beiträge zur. Path. Anatomie u. z. allg. Pathologie.* Elfter Band. 1891).

Steinhaus, « Über Carcinom-Einschlüsse » (*Arch. f. Path. Anatomie und Physiologie u. f. Klin. Medicin.* Band. 126, Heft. 3, 1892).

— « Weitere Beobachtungen über Carcinom-Einschlüsse ». Idem, B. 127, H. 1, 1892.

Virchow, « Bemerkungen über die Carcinomzellen-Einschlüsse ». Idem, 1892.

Soudakewitch, « Recherches sur le parasitisme intracellulaire et internucléaire chez l'homme » (*Annales de l'Institut Pasteur*, tomo VI, N. 3, Mars 1892).

Foà, « Sopra taluni corpi inclusi nelle cellule cancerose » (*Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino*, anno LV, N. 1, 1892).

— « Sui parassiti del cancro » (*Gazz. med. di Torino*, n. 20, 1892).

Sgrosso, « Contribuzione alla morfologia ed alla struttura dei tumori epibulbari con speciale riguardo alle inclusioni parassitarie intra ed inter-cellulari (psorospermi) » (*Annali d'Oftalmologia*, anno XXI, fasc. 10).

Spiegazione delle Figure.

FIG. 1. — Elemento epiteliale della neoplasia, ipertrofico con nucleo reniforme e spinto da un lato. Nel protoplasma di tale elemento vi sta incluso uno dei *corpi cellulari* descritti.

FIG. 2-3. — *Corpi cellulari* con spessa capsula, fra gli elementi epiteliali disposti ad embrice attorno al *corpo* stesso.

FIG. 4. — Forma ovoidale di tali *corpi*, a doppio contorno, contenuto granuloso senza nucleo evidente.

FIG. 5. — *Corpi cellulari* avvolti da una capsula: *a*, nucleo granuloso del *corpo cellulare*; — *b*, forma amiboidea del nucleo dell'altro

corpo cellulare. Tutt'attorno vi sono elementi neoplasici con lunghe ciglia o prolungamenti anastomizzantisi fra di loro.

FIG. 6. — *a*, Cavità limitata da una capsula e circondata da elementi epiteliali. All'interno di questa cavità vi stanno tre differenti *corpi cellulari;* — *b*, uno di questi *corpi* con nucleo di forma amiboidea.

FIG. 7. — *a*, *Corpo cellulare* a doppio contorno: ad una estremità del protoplasma vi è una specie di vescica più chiara con nucleo interno e circondata da un lato da una piccola zona di protoplasma granuloso, più intensamente colorato; — *b*, *Corpo cellulare*, con più nuclei interni, circondati da zona più chiara; — *c*, elemento neoplasico con corpicciuolo vermiforme all'interno del protoplasma.

FIG. 8. — *a*, Elemento neoplasico con *corpo cellulare* inclusovi a nucleo granuloso; — *b*, *Corpo cellulare* con vacuoli interni circondanti il nucleo; — *c*, Elemento neoplasico con *corpo cellulare* inclusovi a più nuclei circondati da sottile contorno.

FIG. 9. — *a*, *c*, *d*, *e*, *f*, Forma tonda ed ovale dei *corpi cellulari* descritti; — *b*, *g*, *Corpi* con vacuoli più o meno grandi circondanti il nucleo.

FIG. 10. — *b, c, d, e, f, g, h, i*, *Corpi cellulari* di varia forma e con nucleo differente, disseminati fra gli elementi epiteliali ciliati: — *a*, due di questi *corpi* sono incistati in una capsula a doppio contorno.

FIG. 11. — Grosso *corpo cellulare* con molti vacuoli interni e sostanza granulosa.

FIG. 12. — *Corpo cellulare* con spessa capsula. Vi si vede un anello di sostanza granulosa intermedio fra il protoplasma omogeneo centrale involgente il nucleo ed una zona periferica trasparente ed incolora.

FIG. 13. — *Corpo cellulare* con protoplasma ridotto e foggiato a bottiglia, dalla cui periferia partono sottili filamenti raggiati che vanno alla capsula.

FIG. 14-15-16. — Elementi neoplasici ciliati e loro diverse e successive fasi degenerative.

Tutte queste figure osservate in sezioni della 1ª neoplasia descritta, vennero disegnate con un microscopio di Koristka Oc. VIII compens. Ob. imm. omog. $^1/_{15}''$, grande modello, tubo abbassato.

FIG. 17. — *a*, *Corpo cellulare* a doppio contorno con più nuclei e sostanza granulosa interna; — *b*, *d*, *i*, forme amiboidee intracellulari di questi *corpi* (Koristka grande modello Oc. VIII compens. Ob. imm. omog. $^1/_{15}''$, tubo abbassato); — *c*, forma ovoidale con protoplasma granuloso; — *f*, *g*, forme vacuolate; — *e*, *h*, grossi *corpi cellulari* involti da spessa capsula e contornati da elementi neoplasici disposti ad embrice e sformati. (Koristka piccolo modell Oc. III, Ob. 8, tubo abbassato).

Questa figura riguarda *forme cellulari* osservate su sezioni della 2ª neoplasia descritta.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 22.

Laboratorio di Patologia Generale della R. Università di Pisa.

RICERCHE SULLA PATOGENESI ED ETIOLOGIA DELL' INFEZIONE VACCINICA E VAIOLOSA

DEL PROF.
Giuseppe GUARNIERI

(Tav. XII)

Se si consultano i manuali di patologia, di anatomia patologica ed i trattati di malattie cutanee anche più recenti, si nota come intorno alla etiologia delle infezioni vaccinica e vaiolosa si posseggano delle conoscenze assai scarse ed imperfette. Questa lacuna, che del resto esiste ancora per un numero cospicuo di malattie d'infezione, non è stata certo colmata dai lavori parassitologici che hanno avuto luce in questi ultimi tempi intorno a così importante argomento. Questi studi di fatto lungi dal semplificare il problema, per la varietà e disparità dei fatti posti in luce e delle induzioni sostenute, hanno contribuito solo a dimostrare l'esistenza di gravi difficoltà per la soluzione di esso. Del resto si comprende facilmente a priori, che, come in ogni altra malattia localizzata alla cute, nel vaiuolo e nel vaccino si hanno di fronte delle condizioni di ricerca difficili per le cause di errore così numerose e facili in lesioni anatomo-patologiche tanto esposte alla invasione dei microrganismi dell'ambiente.

La giustezza di questo asserto traspare in modo evidente dallo studio dei numerosi lavori che da tempo si vanno accumulando nella letteratura medica.

Per amore di brevità tralascio di riassumere quanto è stato pubblicato a questo riguardo, perchè mi è sembrato che tutte queste ricerche abbiano una importanza ed un interesse per la profilassi da una parte e per la patogenesi delle associazioni morbose dall'altra, piuttostochè per la questione della etiologia di questa infezione nel senso più stretto della parola. Questo enorme accumulo di lavoro difatto ha una importanza direi quasi preparatoria per lo studio etiologico dei processi morbosi in parola; e sotto questo punto di vista mi è stato certo di una grande utilità il poter consultare molte delle più interessanti memorie sull'argomento. L'esame critico di esse mi ha indirizzato alla ricerca etiologica per la via più diretta, risparmiandomi in parte la fatica di osservazioni ed esperienze infruttuose.

Ove si pensi alla esistenza del fatto, che non si trovano schizomiceti nel periodo prepustolare o nelle vescicole vacciniche e vaiolose molto giovani prima del processo suppurativo, come è noto nella scienza (Garrè), e come ho potuto io stesso dimostrare ripetute volte, si è spinti alla ricerca parassitologica guidati da ben altre ipotesi che non sono quelle delle origini batteriche del virus vaccinico e vaioloso.

Nè mancano invero nella letteratura medica studi, che, diretti sotto questo punto di vista, abbiano aperta la via all'acquisto di nuovi fatti per porre le basi di una dottrina sulla infezione vaccinica e vaiolosa, che possa resistere agli attacchi di una sana critica.

Per primo, per quanto io mi sappia, il Renaut (1) nel suo lavoro sul meccanismo della pustolazione vaiolosa ha portata la sua attenzione sopra globuli sferici, brillanti, endo-cel-

(1) Renaut, « Nouvelles recherches anatomiques sur la prépustulation et la pustulation variolique » (*Annales de Dermatologie et de Syphilographie*, tome II, 1881).

lulari, che facilmente si coloravano con i comuni mezzi di colorazione. Egli pensò che tali globuletti fossero degli elementi parassitari, ai quali dovesse assegnarsi capitale importanza per la trasformazione cavitaria (Leloir) degli elementi epiteliali del corpo mucoso del Malpighi.

Il Van der Loeff (1) ricercando nella linfa vaccinica osservò dei corpi, molto rari nei preparati per schiacciamento fra due lastrine e più frequenti in quelli fatti in goccia pendente. Questi corpi erano dotati di movimenti proprii ed egli per questo li ritenne molto affini ai Rizopodi. Ricercando con gli stessi metodi semplicissimi nel pus di due vaiolosi, ritrovò corpi ameboidi molto simili a quelli trovati nella linfa vaccinica.

Quasi contemporaneamente L. Pfeiffer (2) descrisse un nuovo parassita che chiamò *monocistis epitelialis*. Lo vide nelle pustole cutanee di diversi mammiferi ed in quelle vaiolose e vacciniche dell'uomo come anche nelle vescicole dell'*erpes zoster*. Ritenne che questo microrganismo passasse i suoi primi stadi di sviluppo nel protoplasma degli epitelî cutanei, i quali per l'accrescersi del parassita venivano distrutti. Si ritrova poi dentro il protoplasma dei leucociti. Presentava una forma rotonda od ovale ed aveva una macchia chiara nucleare. Più tardi, rivestito da una membrana capsulare liscia, compieva le fasi della sporulazione.

Corredò il suo lavoro di due tavole, che certo hanno assai poco contribuito ad illustrare le sue descrizioni.

Questi lavori racchiudono indubbiamente, sebbene si sia ad essi posta finora pochissima attenzione, dei fatti, che hanno

---

(1) Dr. A. van der Loeff, « Uber Proteiden in dem animalischen Impfungsstoffe » (*Monatshefte für Praktische Dermatologie*, B. VI, N. 5, 1 März 1887).

— « Uber Proteiden oder Amöben bei Variola vera » (Id., B. VI, N. 10, 15 Mai 1887).

(2) L. Pfeiffer, « Ein neuer Parasit des Pockenprozesses aus der Gattung Sporozoa (Leukart) » (*Monatshefte f. Praktische Dermatologie*, B. VI, N. 10-15, Mai 1887).

— « Die Protozoen als Krankheitserreger », Jena, 1890.

per se stessi un altissimo interesse scientifico. L'insufficiente studio, le descrizioni o imperfette o fatte solo incidentalmente in ricerche di altro ordine hanno contribuito potentemente a lasciare dubbioso l'animo dei clinici e dei patologi sù di essi, tanto che, il più delle volte, non sono stati ricordati nei manuali, o, se pur ve ne è fatta menzione, non si è accordata ad essi l'importanza che hanno di fatto.

Del merito però di queste osservazioni mi sono intimamente convinto, quando ad esse ho potuto paragonare i risultati delle mie ricerche che da tempo ho intraprese e che espongo in questo lavoro.

Ho incominciato con lo studio delle alterazioni vaiolose della cute e delle mucose nell'uomo. Malauguratamente il materiale, che ho adoperato per tale studio, è stato sempre ritratto da cadaveri necessariamente dopo molte ore dalla morte. Per tale ragione nel porre in rilievo i fatti, che emergono da queste osservazioni, ho incontrate delle gravi difficoltà per le alterazioni cadaveriche più o meno avanzate, che sempre influiscono a modificare l'aspetto istopatologico del processo.

Nel riassumere la descrizione delle lesioni anatomiche della cute e delle mucose in tali condizioni di ricerca, lungi dal fare una descrizione completa della genesi della pustolazione vaiolosa così dettagliatamente nota nella scienza (Weigert-Renaut), terrò solo conto di quei fatti che più davvicino riguardano la mia tesi.

Le lesioni patologiche s'iniziano nel corpo mucoso del Malpighi, come è noto, a piccoli focolai che ingrandiscono progressivamente espandendosi in tutti i sensi. Le regioni colte dall'alterazione mostransi già a piccolo ingrandimento meno capaci di assorbire le materie coloranti e per questa ragione più facilmente si possono ritrovare con le lenti ricercatrici. I nuclei sono più lontani gli uni dagli altri, vescicolari e nettamente visibili, perchè il più delle volte sono contenuti in un campo chiaro. Evidentemente gli epiteli in questi punti sono aumentati di volume e contribuiscono così, sollevando gli strati cellulari più periferici, alla formazione della papula.

Ove si esaminino queste regioni con più forte ingrandimento (Fig. 1ª) si nota come le alterazioni hanno colpito più particolarmente il protoplasma cellulare risparmiando a questo momento i nuclei che non presentano lesioni apprezzabili. Già nelle parti più periferiche degli elementi cellulari non si riesce più a vedere le dentellature di Schultze ed una sostanza quasi lamellare a più strati considerevolmente spessa occupa il posto di essa ed incornicia più o meno completamente ogni nucleo cellulare. Probabilmente questa alterazione ha sede nella porzione periferica del protoplasma degli epitelî, fondendo insieme le parti in contatto, per cui non si distingue più il limite fra un elemento e l'altro. Nella porzione del protoplasma più vicina al nucleo vi sono come escavati degli spazi chiari, i quali a volta raggiungono la grandezza di quasi due terzi della cellula. In questi vacui completamente trasparenti o ripieni di un detritus finamente granuloso è contenuto il nucleo, il quale viene ordinariamente respinto da un lato. Oltre il nucleo vi si rinvengono costantemente dei corpicciuoli che si colorano intensamente con il carminio boracico, con l'ematossilina, con la safranina, con il rosso di Magenta, ecc. Essi hanno forma varia con sporgenze irregolari arrotondate. Hanno un volume assai vario. A volte raggiungono quasi la grandezza della metà di un nucleo epiteliale, altre volte sono piccolissimi e paragonabili ad un micrococco. Parrebbe che le forme più voluminose tenessero il centro del focolaio patologico e le forme più piccole occupassero gli elementi cellulari più periferici della zona alterata. Questo fatto farebbe pensare che tali corpicciuoli aumentassero di volume con il progredire dell'alterazione del corpo mucoso. E tanto più appare probabile questa ipotesi, in quanto si può fino ad un certo punto riconoscere, che il volume loro è anche in rapporto diretto con il grado dell'alterazione cavitaria dell'elemento cellulare.

Questi corpicciuoli poi in queste specie di nicchie sono d'ordinario solitari, ma a volte vi si ritrovano in numero di due e più raramente di tre. Sono collocati nella maggior parte

dei casi a certa distanza dal nucleo, assai raramente però sono ad esso aderenti; ed allora si adattano deformandosi alla superficie della membrana nucleare. Per questa ragione appare evidente che tali corpi devono essere molli, plasmabili, poichè attaccandosi essi alla superficie del nucleo, questo conserva d'ordinario la sua forma vescicolare. Assai raramente mi è occorso di vedere questi corpicciuoli innicchiati nel nucleo, i quali allora presentano la membrana infossata per dar posto alla piccola massa, che resta però costantemente esterna alla cavità nucleare. Non sono riuscito con i migliori mezzi di tecnica e con le migliori lenti di riconoscere la struttura intima di questo corpicciuolo: esso si mostra composto di una sostanza omogenea che si tinge uniformemente tanto al centro che alla periferia.

Fra gli altri fatti degni di altissimo interesse che accompagnano questo periodo iniziale, prepustolare delle lesioni vaiolose, va segnalata anche l'attivissima proliferazione delle cellule epiteliali e nel focolaio delle lesioni e nelle adiacenze di esso. Ad onta delle condizioni sfavorevoli del mio materiale di studio per una ricerca così delicata si arriva con sufficiente evidenza alla dimostrazione di questo fenomeno.

Attorno al punto della lesione si osservano costantemente mitosi in tutti gli stadi, specie nelle regioni profonde del corpo mucoso, le quali indubbiamente debbono essere di fatto assai più numerose di quello che appare nei miei preparati, come farebbe pensare la imperfezione delle immagini cariocinetiche ottenute. Questa moltiplicazione cellulare si effettua anche con molta attività nei centri delle lesioni come viene dimostrato dalla presenza in essi di cellulle provviste di due nuclei. Talvolta poi ne contengono un numero assai maggiore; se ne possono contare fin dieci in un medesimo protoplasma. Allora essi sono ovalari, alquanto più piccoli, raggruppati in un canto della cellula e tutti orientati con il maggior diametro nello stesso senso. A volta in essi si nota un vistoso filamento cromatico, tal altra nucleoli molto appariscenti, ma d'ordinario sono cistici, pochissimo colorabili. Il protoplasma

di questi elementi non sembra aumentato in proporzione con il numero dei nuclei in esso contenuti. Esso assume forma irregolarissima, adattato a tutte le anfrattuosità lasciate dalle cellule epiteliali adiacenti, come si può benissimo osservare nelle sezioni disposte in serie. In esso si ritrovano egualmente le lesioni cavitarie, e vi esistono costantemente i corpicciuoli sopradescritti. In questa specie di elementi epiteliali giganteschi essi sono sempre soli e collocati al polo opposto del gruppo dei nuclei.

Nella successiva evoluzione delle alterazioni epiteliali, nella formazione cioè della pustola, riesce sommamente difficile di seguire il destino dei corpicciuoli, i quali, perchè nei preparati miei non presentano caratteristiche note morfologiche, nè possiedono una colorazione specifica, si perdono di vista facilmente in mezzo al detritus epiteliale ed in mezzo all'accumulo di leucociti migrati. Di fatto è noto come le alterazioni degli elementi del corpo mucoso di Malpighi aumentino progressivamente, i nuclei si spezzettino, e degli epiteli non restino che dei setti formanti cavità alveolari, naturalmente derivate dalla fusione di più cellule rigonfie. Allora una notevole migrazione di leucociti invade questi alveoli, e si uniscono in mezzo al liquido siero-fibrinoso ai resti nucleari ed ai noti corpicciuoli.

Mentre questo accade nelle parti centrali della pustola, le regioni più periferiche presentano degli elementi epiteliali, nei quali si riconoscono le lesioni caratteristiche del periodo prepustolare.

Mentre poi le cellule epiteliali superficiali, quelle immediatamente al disotto dello strato lucido sono rigonfie, e comprimendosi le une con le altre assumono l'aspetto di cellule vegetali, dentro le quali a volte si vede il corpicciuolo nettamente distinto dal nucleo.

È notevole poi un altro fatto che intanto colpisce l'attenzione, ed è la presenza nelle nominate cavità alveoliformi di globetti molto simili a cocchi, il più delle volte separati gli uni dagli altri, altre volte aggruppati insieme in contatto in-

timo in modo da formare un piccolo corpo moriforme. Si ritrovano assai facilmente in mezzo al siero coagulato dai reagenti adoperati per la fissazione e l'induramento, quando una cospicua migrazione cellulare non mascheri il campo d'osservazione. Questi globetti hanno grandezza varia che oscilla nel diametro da 1 a 3 μ. Si colorano intensamente con le comuni sostanze coloranti. Con doppia colorazione fatta con soluzione acquosa alcalina di turchino di metilene e soluzione acquosa semplice di Safranina O si vede nettamente che questi globetti constano di due sostanze: una esterna che assume il colore turchino, ed una centrale che prende il colore rosa. La parte esterna involge l'altra a guisa di sottile membranella, che in sezione ottica appare come un netto cerchietto che circonda la sostanza interna di aspetto omogeneo, nella quale non si rivela alcuna struttura.

Presenta eziandio molto interesse lo studio delle alterazioni che si rinvengono nelle mucose. Ho potuto esaminare quelle della laringe e della faringe in tre cadaveri. Le preparazioni dimostrano costantemente una neoformazione attivissima delle cellule epiteliali a focolaio, per cui in tali zone si possono contare, come già altri hanno osservato (Cornil e Ranvier), perfino 8 o 10 strati epiteliali. Nei limiti, dove il processo di proliferazione è iniziale, si nota un numero straordinario di mitosi meravigliosamente evidenti per preparati fatti dalla mucosa di cadaveri sezionati dopo molte ore dalla morte. Anche in questo caso, sebbene con minore evidenza che nelle lesioni cutanee, nel protoplasma degli epiteli si rinvengono i noti corpicciuoli. In alcuni punti questi si vedono nettamente situati in nicchie scavate nel protoplasma delle cellule epiteliali. Anche qui è inutile insistere sulla ricerca della struttura intima di questi corpicciuoli, poichè, come mi sono persuaso, le alterazioni cadaveriche li rovinano rapidamente. È molto difficile inoltre di rintracciarli nei punti dove il processo di alterazione del tessuto è molto avanzato, dove il protoplasma delle cellule è rigonfio, i nuclei o spezzettati o deformati o ripieni di goccioline di sostanze molto avide di colore,

e dove esistono delle zone di necrosi ricoperte da pseudomembrane piene di schizomiceti, limitate da infiltrazioni cellulari.

Feci eziandio alcuni esami sul contenuto delle pustole o disseccato sulla superficie di vetrini, od in gocce pendenti, mescolando il materiale con soluzione di turchino di metilene in siero di sangue umano, o senza alcun artifizio di colorazione. Malauguratamente non mi è riuscito di poter eseguire queste osservazioni in condizioni adatte, nè in numero sufficiente, per cui dell'accertamento di molti fatti mi restano ancora dei dubbi e mi riserbo di parlarne in ulteriore lavoro.

Tutti questi fatti del resto messi in rilievo dall'esame microscopico delle alterazioni vaiolose nell'uomo presi da soli mi sono apparsi insufficienti per poterne trarre una conchiusione. Per apportar luce alla interpretazione di fenomeni così speciali e così costanti, mi è sembrato opportuno di ricorrere al sussidio dell'analogia, studiando un'altra infezione molto simile al vaiolo umano nelle manifestazioni morbose. L'infezione vaccinica difatto presentava sotto questo punto di vista molti vantaggi.

Con linfa vaccinica avuta direttamente dall'Istituto vaccinogeno dello Stato e da altri istituti nazionali ed esteri, inoculai a più riprese delle pecore e delle coniglie nelle mammelle, e dei conigli nella mucosa delle labbra. Ottenni quasi costantemente, avendo cura nel fare l'innesto di seguire le regole dell'antisepsi e di fare le minori lesioni cutanee possibili, bellissime pustoline che potetti escidere a diversi stadi di sviluppo. I pezzi fissati in soluzione di sublimato corrosivo (1) venivano conservati in alcool.

---

(1) I pezzi venivano tenuti per 20 o 30 minuti, a seconda del loro volume, in una soluzione di sublimato corrosivo della formula seguente:

Acqua distillata	grm.	100
Cloruro di sodio	»	3
Sublimato corrosivo	»	20
Acido acetico	»	3.

Passati nella serie degli alcool con qualche goccia di tintura alcoolica di iodio, venivano conservati nell'alcool a 90°. Ho ottenuto così, anche per altre ricerche, delle ottime fissazioni che si colorano assai bene con la ematossilina, carminio, ecc.

Le sottili sezioni di esse anche dopo 36 ore dall'innesto dimostrano costantemente sul punto d'inoculazione un focolaio d'infiltrazione cellulare, che invade l'epitelio fin verso la superficie e che si estende e cresce progressivamente negli stadi più avanzati di pustolazione. È questo certo un grave inconveniente, che con le inoculazioni nella cute e nelle mucose per la produzione sperimentale delle pustole non si riesce in nessun modo ad evitare. Ciò non di meno però le lesioni epiteliali primitive possono essere molto comodamente studiate nelle zone adiacenti immediatamente al posto della infissione o scarificazione fatta con la lancetta d'innesto. Quivi si vedono assai sovente delle cellule epiteliali, che senza alcuna alterazione del nucleo, solo presentano una nicchia nel protoplasma, dentro la quale esiste un corpicciuolo assai simile a quello anzi descritto nelle alterazioni vaiolose umane. Nelle preparazioni bene riuscite si nota come esso consti di una sostanza esterna di forma varia, di struttura omogenea, che contiene nella parte centrale un evidente nucleo o rotondo od ovalare più intensamente colorato del protoplasma che lo involge.

Queste apparenze, lungi dal far giudicare tale corpicciuolo per un paranucleo d'origine patologica (Nussbaum-Platner) destano nella mente l'ipotesi che esso possa essere un parassita vivente e per la sua intima struttura e per i rapporti con il protoplasma cellulare.

Per tal ragione ho fatti molti tentativi di cultura, che, essendo riesciti infruttuosi, per amore di brevità non istarò ad enumerare. Solo ricorderò le culture fatte sopra lembetti di epitelio che, tolti dall'uomo o dalle mammelle di coniglie, con le più scrupolose cautele antisettiche, e posti in capsule con siero sterilizzato e disseminate di detrito di vaccino, o sospesi in tali condizioni in goccia pendente, mi dettero pur essi costantemente risultati negativi.

Il siero ed il brodo, per quante precauzioni si usassero, erano invasi rapidamente da batterii, ed intanto nelle preparazioni dei lembetti di epitelio non si presentavano alterazioni che per nulla potessero essere paragonate a quanto ho già de-

scritto nei preparati delle pustole sperimentali della pecora e del coniglio.

Pensai allora di studiare la questione su superficie epiteliali viventi. Scelsi per questo la cornea del coniglio, che possiede già una sufficiente recettività per l'infezione vaccinica, come quella che più di ogni altra superficie epiteliale permetteva l'osservazione e la sorveglianza diretta dei fenomeni.

Con un piccolo ago lanceolato molto tagliente e sterilizzato in acqua bollente praticava nelle parti centrali della cornea il più superficialmente possibile, tenendo il piano della lancetta tangente alla curva corneale, una puntura in modo da sollevare un piccolissimo lembo di epitelio. Nella specie di tasca così fatta introduceva nuovamente l'ago dopo averlo bagnato nel pus vaccinico.

Dopo 8 o 10 ore si riconosce con grande difficoltà il punto d'innesto nella superficie corneale, che appare perfettamente trasparente. Dopo 24-30 ore si nota, dove fu fatta la lesione di continuo con l'ago, un ispessimento dello strato epiteliale, che appare alquanto sollevato dalla linea di curvatura normale della cornea medesima. Quest'ispessimento si estende attorno al punto d'innesto ora circolarmente, ora in una maniera più o men irregolare per due o tre millimetri al più. Dopo 40-50 ore i fatti summentovati si accentuano senza che si vegga sul posto, ove l'innesto sia stato fatto con tutti i rigori di tecnica, alcuna macchia opaca. L'ispessimento epiteliale dopo 60-70 ore cresce e la prominenza diventa sempre più evidente, specie se si guarda la cornea nel suo profilo. Intanto a qualche distanza dal punto d'innesto si notano spesso disseminate in modo irregolare delle piccole elevazioni epiteliali trasparentissime. Questa eruzione di puntolini miliarici passerebbe inosservata se non vi si prestasse molta attenzione, e non si adoperasse per rischiarare la cornea un fascio di luce artificiale.

Già a questo momento sul posto dove fu praticato l'innesto si va accrescendo la lesione di continuo e si forma come una

piccola ulcerazione irregolare a bordi frastagliati; la cornea a questo punto si opaca. Più tardi la cavità ulcerosa interessa a tutto spessore lo strato epiteliale, e a volte si estende anche agli strati lamellari della cornea stessa. Allora nella parte più profonda dell'ulcera si notano dei lembetti necrotici, ed attorno si forma un alone opaco più o meno esteso, e talvolta anche ipopion. Ordinariamente però la necrosi si limita e si ha una riparazione del processo con un leucoma centrale.

In diversi stadi di sviluppo delle alterazioni sovradescritte feci degli esami microscopici su brandelli di epitelio presi con il raschiamento superficiale della cornea. Le dissociazioni venivano fatte su vetrini coproggetti in mezzo ad una o due gocce di lagrime raccolte nella tasca palpebrale inferiore col mezzo di un tubetto capillare. La preparazione veniva collocata capovolgendola sopra di un porta-oggetti incavato e circondato da uno strato di vasellina che faceva così aderire completamente la superficie delle lastrine in contatto.

L'epitelio si presenta granuloso ed opaco nella massima parte dei casi, tanto che riesce assai difficile di poter in esso distinguere il nucleo. Alcune volte però la intima struttura dell'elemento epiteliale appare con sufficiente chiarezza, ed è appunto nei casi, nei quali esso è più o meno alterato. In tali cellule epiteliali il nucleo ordinariamente è spinto da un lato, mentre dall'altra parte del protoplasma esiste un corpicciuolo splendente, che può essere paragonato ad un pezzettino di ambra della quale ha il colore e la rifrangenza, che spicca su quello del protoplasma cellulare di color biancastro sporco. Se il preparato viene tenuto alla temperatura pressappoco di 38°-40°.c. con il tavolino riscaldante di Reichert, si nota come esso sia *capace di cangiar forma*. I movimenti amiboidi, osservati in questo corpicciuolo in tali condizioni, sono molto lenti, assai più lenti di quelli che si osservano nelle amebe malariche dentro i globuli rossi dell'uomo. Debbo far notare che l'osservazione di questo fenomeno presenta delle grandi difficoltà, perchè il protoplasma epiteliale anche nei casi più favorevoli è sempre torbido, ben diverso dal proto-

plasma omogeneo dei globuli rossi dove la retina dell'osservatore con i mezzi ottici attuali può apprezzare facilmente le più lievi variazioni di forma.

Ove si faccia penetrare al disotto della lastrina qualche goccia di lagrime, nelle quali sia stato sciolto del turchino di metilene, il corpicciuolo suddescritto si colora intensamente assumendo una forma rotondeggiante; ma la struttura di esso si studia assai più vantaggiosamente nelle cornee fissate nella soluzione di sublimato corrosivo acidulata con acido acetico, e sezionate in serie.

Esaminando a piccolo ingrandimento questi preparati si nota, nei casi ove l'ago lanceolato ha sollevato solo degli straterelli epiteliali, che il tessuto lamellare della cornea e lo strato di Bowmann non presentano alcuna alterazione apprezzabile.

Gli strati epiteliali di rivestimento sono aumentati in numero, specie nelle adiacenze della infissione. Quest'ispessimento è irregolare e presenta assai sovente delle elevazioni a guisa di piccole papille disseminate variamente senza una legge di distribuzione. Nella parte centrale di esso si osservano delle lesioni di continuo che corrispondono indubbiamente a quelle fatte dall'ago d'innesto: esse sono irregolari, frastagliate, con lembi epiteliali distaccati dalla lamina corneale anteriore, che a volta sono accartocciati in varia guisa. In alcune serie di preparati si nota, quando la lancetta sia penetrata fra le lamelle della cornea, che l'epitelio proliferante ha invaso il tramite lasciato dall'ago, e si vedono nelle sezioni come degli isolotti di cellule epiteliali contenuti nel tessuto proprio della cornea. L'epitelio intanto reagisce normalmente con le sostanze coloranti nei punti lontani dalle soluzioni di continuo, mentre invece nei lembetti distaccati esso si colora assai meno.

Ove i preparati vengano esaminati a più forte ingrandimento di quattro o cinquecento diametri (Fig. 3), si nota, come nelle adiacenze della lesione di continuo, nei lembetti epiteliali, negli isolotti di epitelio neoformato quasi ogni elemento cellulare contenga, oltre il nucleo, dei corpicciuoli molto colorati. Essi appaiono come incorniciati da uno spazietto chiaro

scavato nel protoplasma colorato della cellula, ed hanno dimensioni piccolissime nelle cellule più eccentriche dal punto di lesione, e raggiungono invece il loro massimo volume, paragonabile ad un terzo ed anche alla metà dei nuclei epiteliali, negli elementi dei margini della ulcerazione, dove il processo patologico è più adulto.

Mi sembra evidente per questa legge di distribuzione che la variazione di dimensione volumetrica di questi corpicciuoli rappresenti stadi diversi del loro sviluppo.

Se essi si esaminano con lente ad immersione omogenea (Fig. 4) si nota che sono provvisti di un evidente nucleo, il quale si colora intensamente con le comuni soluzioni coloranti. Esso ordinariamente è rotondo od ovalare; il protoplasma che lo involge ha forma assai svariata, talvolta è rotonda, tal altra ovoidea, ma il più sovente ha il contorno ondulato in varia guisa; una vera e propria forma ameboide.

In loro si rinvengono spesso uno o più *vacuetti* (Fig. 5, *b*), che appaiono come bollicine perfettamente chiare in mezzo al protoplasma colorato.

Un altro fenomeno intanto si rileva dalla osservazione delle sezioni così preparate, ed è il processo di moltiplicazione di questo corpicciuolo, che va considerato anche per tal ragione come un essere vivente. In primo luogo la moltiplicazione avviene *indubbiamente per scissione* (Fig. 7) e parrebbe che gl'individui, nei quali essa è per determinarsi, fossero quelli di forma ovalare con il limite del protoplasma nettamente e regolarmente disegnato. Difatti in essi anche il nucleo è ovoideo e spesso mostra già ai due poli due punti più intensamente colorati. Alcune volte il nucleo è diviso in due porzioni allontanate l'una dall'altra verso l'estremità opposte del protoplasma, ma sono ancora in rapporto fra di loro per delle sottili strie di sostanza filiforme. Quest'aspetto che ricorda con sufficiente somiglianza una figura di cariocinesi (*diaster*, *dispirema*) e che ha attirata vivamente la mia attenzione, ho solo potuto vedere tre volte in un numero assai considerevole di osservazioni. Più frequentemente però s'incontrano indi-

vidui con due nuclei allontanati fra di loro e completamente liberi. In alcuni di questi non si osserva alcun accenno di divisione nel protoplasma; mentre in altri invece sulla parte mediana del corpo cellulare si osserva una linea trasversale che disegna più o meno nettamente il limite di scissione fra i due elementi figli. Questa linea in altri ancora diventa un vero spazio intercellulare e gli elementi figli liberi staccandosi gli uni dagli altri assumono forme ameboidi nettissime. La serie di questi fenomeni si può osservare a volte in un medesimo preparato, ed indiscutibilmente vanno interpretati per diverse fasi di moltiplicazione cellulare per scissione semplice. E tanto più appare evidente questo modo di vedere, in quanto gli elementi figli costantemente sono molto più piccoli: rappresentano appena la metà del volume delle forme adulte, e l'eguagliano completamente quando sono disposti a coppia.

Parrebbe inoltre che esistesse un altro modo di moltiplicazione di questi esseri per *gimnospore* (Fig. 6). Nelle cornee tolte dopo tre o quattro giorni dall'innesto si trovano spesso nelle vicinanze della lesione di continuo, oltre ad elementi, nei quali si rinviene il nucleo o rotondo od ovalare, altri, nei quali assume una forma irregolare. In alcuni di essi si vede nettamente la figura di piccola stella o di raggiera, ed allora il contorno del protoplasma apparisce come dentellato con rilevature tondeggianti disposte regolarmente in giro.

In alcuni di essi si vede che i raggi del nucleo ad astro si spingono verso le parti più periferiche del corpo cellulare, che allora assume l'aspetto quasi della sezione trasversa di un arancio mondato. Sembrerebbe, facendo durante l'osservazione microscopica degli adatti movimenti della vite micrometrica, che tale aspetto fosse dato da *spore* ovoidali poco colorabili nella parte centrale disposte in giro tangenti fra di loro per il minor diametro, come i petali d'una margherita. Altre volte queste spore sono aggruppate fra di loro in una maniera meno regolare formando specie di corpi moriformi. Questi corpi così in segmentazione non sono racchiusi dentro una membrana cistica speciale, ma la loro superficie è libera dentro la caratteristica nicchia scavata nel protoplasma cellulare.

Sebbene le osservazioni si sieno ripetute sopra un numero considerevole di preparati, pure per la piccolezza delle immagini, e forse anche per i metodi poco adatti, dovendo adoperare i più forti ingrandimenti, non sono riuscito a vedere queste forme con la nettezza e precisione necessarie, e sono costretto per tal ragione a fare molte riserve per la interpretazione di esse come vere e proprie sporulazioni. Tanto più poi mi restano dei dubbi, perchè non sono riuscito in alcuna maniera a prepararle a fresco con o senza artifizio di colorazione: mentre si sa che in questo modo per altri esseri molto affini si ottengono delle immagini molto chiare. Di fatto, servendosi di questi mezzi semplicissimi, si possono studiare molto comodamente le fasi di sporulazione del plasmodio della malaria, per poi ritrovarle e riconoscerle per tali nei capillari cerebrali, retinici e della milza, dove le immagini dopo l'azione dei mezzi fissatori sono assai meno nette.

Sebbene la disposizione dei segmenti a margherita in tali corpicciuoli sia tracciata con certa regolarità, direi quasi geometrica, pure potrebbe tale aspetto rappresentare una disgregazione necrobiotica, più che una vera segmentazione riproduttiva, tanto più che essa si ritrova specialmente dove il disfacimento del protoplasma degli epitelii è più avanzato. Con questo però non è detto che appunto, dove l'epitelio è più profondamente alterato si possano determinare le condizioni, adatte per una seconda maniera di riproduzione di questo essere per vera e propria sporulazione. Ma di questo in un successivo lavoro.

Le alterazioni epiteliali intanto che sono in diretto rapporto con la vita del parassita, presentano molto interesse per la interpretazione della evoluzione del processo patologico. Esse cominciano con la penetrazione, dentro il protoplasma, del parassita, il quale si scava una specie di nicchia, che ha forma d'ordinario sferoidale, come si vede chiaramente in quelle cellule, dove si può sorprendere il fenomeno negli stadi non molto avanzati (V. fig. 5, *a*). L'escavazione ha una capacità assai maggiore del volume del microrganismo, ma è sempre

proporzionata alla grandezza di esso. La zona compresa fra la superficie della cavità e quella del microrganismo è incolora e perfettamente trasparente.

È logico credere che questo essere parassitario nel muoversi dentro a questa cavità corroda la parete distaccandone delle particelle per servire alla propria nutrizione. E la funzione nutritiva, che in esso si compie alla maniera istessa che avviene per altri esseri amebiformi, è quella che sovra ogni altra proprietà deve influire sulla evoluzione delle alterazioni istologiche. Difatti negli stadi più avanzati del processo questa specie di nicchia scavata nel protoplasma s'ingrandisce, perde la sua forma sferoidale, ed occupa a volta quasi tutto il protoplasma. Le cellule epiteliali, così profondamente lese, nei punti di alterazione più avanzata cadono distaccate in gruppi dalla superficie, o sono invase da leucociti migrati: altre volte invece gli epitelii così escavati vengono sostituiti da altre cellule epiteliali di neoformazione che respingono da un lato il nucleo superstite ed in parte si ricingono schiacciandolo con i resti del protoplasma (V. fig. 2). Poichè, come già abbiam visto, una rigogliosa proliferazione delle cellule epiteliali accompagna costantemente l'accrescersi ed il moltiplicarsi dei parassiti che invadono a volta il protoplasma pur anco dei giovani epitelii, nei quali i nuclei sono ancora in fase di dispirema. Questa caratteristica iperplasia epiteliale delle manifestazioni anatomiche dell'infezione vaccinica trova molta analogia non solo con quanto avviene in altri morbi nei quali la proliferazione epiteliale è notoriamente rilegata al parassitismo di un protozoo, per es: l'epitelioma contagioso dei colombi (Rivolta-Böllinger), ma anche, e questo ha un interesse diretto per noi, con la neoproduzione epiteliale attivissima nelle manifestazioni anatomiche dell'infezione vaiolosa nell'uomo.

Ho richiamata dianzi l'attenzione su questo fatto, del resto noto nella scienza; ora aggiungo che di esso ho ottenuta la riprova sperimentale, inoculando nella cornea linfa raccolta da vescicole vaiolose. Con questo mezzo non solo si provoca

la iperplasia degli epitelii corneali, ma eziandio molti altri fenomeni che servono a dimostrare la stretta parentela dell'infezione vaccinica con quella vaiolosa.

Potetti avere della linfa raccolta da pustole vaiolose dall'ospedale delle malattie d'infezioni di Milano, dal lazzaretto di Cecina e da quello di Pisa. Molti degl'innesti fatti dettero rapidi flemmoni corneali in taluni casi con ipopion successivo, alla stessa maniera che avveniva nelle prove di controllo con pus da piogeni comuni. In altri non si ebbero alterazioni apprezzabili, come si osserva costantemente nelle semplici lesioni traumatiche asettiche. In altri invece si osservarono fenomeni molto simili a quelli dianzi descritti per le inoculazioni di linfa vaccinica: solo la proliferazione epiteliale si faceva più rapida, ed il processo riparatore delle lesioni di continuo era più pronto.

Le preparazioni poste in serie dimostrano a piccolo ingrandimento, oltre l'iperplasia dell'epitelio nelle adiacenze dell'innesto, anche la presenza di corpicciuoli nel protoplasma di alcune cellule (V. fig. 2). Essi sono contenuti pure in nicchie di capacità assai maggiore del loro volume, cosicchè appaiono come circondate da una zona chiara; posseggono un evidente nucleo che si colora molto più intensamente del protoplasma che lo circonda. Studiando parecchi preparati si possono sorprendere le diverse fasi di una moltiplicazione per scissione, che avviene alla stessa maniera di quella che si osserva nei corpicciuoli dell'infezione vaccinica.

Per quante prove io abbia fatte non sono riuscito ad osservare direttamente i movimenti ameboidi di questo essere, come invece potetti vedere in quello del vaccino. È molto probabile però che anche questo microrganismo possegga dei movimenti proprii, poichè esso, nei preparati fissati col sublimato, non solo ha forma ovoidea o rotondeggiante, ma anche mostra a volta il suo protoplasma ondulato in varia guisa, come vengono sorpresi spesso da reagenti fissatori molto attivi altri elementi amebiformi. D'altra parte poi si comprende facilmente come sia assai più difficile l'incontrarsi nell'osservazione

microscopica con elementi cellulari che permettano l'esame diretto di tali movimenti, giacchè in queste prove sperimentali d'innesto sulla cornea del coniglio esiste un numero assai minore di elementi cellulari invasi dal parassita. Di fatto nei miei preparati meglio riusciti si vedono in mezzo alla grande iperplasia epiteliale solo qua e là nei margini della lesione dei gruppetti limitati di cellule, che contengono il parassita, mentre la maggioranza degli epitelii ne è assolutamente sprovvista.

L'insieme di questi fatti mi sono apparsi sufficienti per autorizzare alla interpretazione dei fenomeni osservati nelle lesioni vaiolose della cute umana : giacchè il corpicciuolo provvisto di nucleo e protoplasma che, per le sue proprietà d'escavare gli epitelii corneali, siamo spinti a ritenere per un parassita vivente, è l'equivalente del corpicciuolo che si rinviene costantemente nel periodo prepustolare delle lesioni vaiolose umane.

Sebbene queste mie ricerche presentino una quantità di lacune da colmare, pur non di meno per esse viene accertata l'esistenza di alcuni fatti che aprono la via a nuove dottrine intorno alla patogenesi ed alla etiologia di morbi, che hanno un così alto interesse nella scienza. Confortato da questo pensiero mi sono deciso di pubblicare questa mia prima nota nella speranza di poter meglio contribuire alla questione in seguito, quando avrò completato altri studi che sono già avviati.

È indubitato intanto che l'infezione vaccinica ha per fatto anatomico costante la formazione di pustole, che segue ad una alterazione caratteristica dell'epitelio del corpo mucoso malpighiano. Queste alterazioni coincidono con la vita endocellulare di un essere amebiforme, il quale possiede un evidente nucleo, un protoplasma dotato di movimenti proprii ed è capace di accrescersi e di moltiplicarsi. La moltiplicazione di esso si fa, durante la evoluzione dell'alterazione patologica, *senza dubbio* per scissione, che s'inizia con un processo di cinesi della sostanza nucleare, e *probabilmente* anche per endogenesi di gimnospore. Per tali proprietà morfologiche non

cade dubbio che questo essere monocellulare debba considerarsi come un Protozoo parassita, probabilmente della classe degli Sporozoi (Leuckart).

Frattanto nell'attendere che ulteriori studi illustrino meglio la morfologia e la biologia di questo microrganismo, mi è parso opportuno di chiamarlo col nome di *Citoryctes*, desumendolo dalle sue caratteristiche proprietà patologiche di corrodere il protoplasma cellulare nel quale esso compie il suo ciclo vitale. Questo nome, sebbene informato solo al concetto dell'importanza del parassita nella genesi delle lesioni, mi fa ritenere, che, mentre da un lato esso rende una esatta idea delle sue proprietà patogene, debba dall'altra non essere improprio nel designare la sua importanza zoologica. Del resto esso stabilisce un genere nel quale dovranno indubbiamente raggrupparsi nuove specie di esseri molto affini fra di loro. Difatto, come la patologia e l'igiene insegnano, esiste fra la patogenesi dell'infezione vaccinica e di quella vaiolosa una certissima analogia, che le mie ricerche dianzi esposte hanno confermato pienamente. Per i resultati di esse appare evidente, che anche nell'infezione vaiolosa, a simiglianza di quella vaccinica, esiste un *Citoryctes*, il quale compie il suo ciclo vitale in rapporto diretto con l'evoluzione del processo patologico. Sebbene in condizioni di ricerca poco favorevoli, ho potuto determinare con sufficiente dettaglio e precisione le proprietà biologiche e morfologiche del *Citoryctes variolae* che mostra una evidente somiglianza con il *Citoryctes vaccinae*. Ma esistono indubbiamente fra i due microrganismi note differenziali *specifiche* che meritano di essere studiate, come per esempio la preferenza di sede nella vita parassitaria spontanea in una specie di animali piuttosto che in un'altra. Mentre si prevedono così l'esistenza di caratteri speciali suggeriti anche dalle differenze di entità ed estensione morbosa, la simiglianza delle proprietà patogene che rispettivamente possiede ciascuno di questi Protozoi parassiti, serve a ravvicinarli fra di loro. La base di fatto delle lesioni anatomiche, tanto nel vaccino che nel vaiuolo, è l'alterazione caratteristica degli epitelii del

corpo mucoso Malpighiano, rispettivamente di quello della faringe, della cornea, ecc., che si rivela con la distruzione cavitaria del protoplasma cellulare dovuta all'azione corrodente dei parassiti in esso annidati, i quali tanto nell'un caso che nell'altro agiscono in una maniera assai analoga.

Resta in tal maniera spiegato il meccanismo di formazione dell'alterazione prepustolare, e facilmente si comprendono poi le alterazioni successive, che caratterizzano il periodo pustolare stesso. In tal modo adunque viene evidentemente chiarita la *patogenesi* de' due processi, le lesioni anatomiche, dei quali trovano la ragione sufficiente di essere nella vita endocellulare del *Citoryctes vaccinae* e rispettivamente del *Citoryctes variolae*. Reso noto in tal maniera l'origine delle alterazioni anatomiche elementari, per naturale induzione si comprende facilmente l'*etiologia* del processo patologico.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1ª. — Campo microscopico in corrispondenza del corpo mucoso del Malpighi di vaioloso, nel quale si nota l'epitelio in preda alle alterazioni caratteristiche del periodo prepustolare del vaiuolo.
(**Koristka** $^1/_{15}$ **Imm. omog.** - Ocul. comp. 4. - **Lung.** tubo 160 mm).

Fig. 2ª. — Innesto sulla cornea di coniglio di linfa vaiolosa. Cellule epiteliali **fissate dopo 48 ore** dalla inoculazione, che presentano l'epitelio **in buona parte** traforato da vacuetti chiari con dentro i corpicciuoli **parassitici, alcuno** dei quali si sorprendono nel periodo **della scissione.**
(**Koristka** $^1/_{15}$ **Imm. omog.** - Ocul. comp. 4 - **Lung.** tubo 160 mm).

Fig. 3ª. — Cornea di coniglio dopo 48 ore dall'innesto del pus vaccinico. **Si vedono le cellule epiteliali** in massima parte prese dal parassita **collocato dentro una escavazione.**
(**Hartnack** obb. 8. Ocul. 3).

Fig. 4ª. — Sezione d'una papula miliarica di una cornea di coniglio **inoculato da 4 giorni. Le cellule** epiteliali contengono il parassita **amebiforme dentro** escavazioni vacuolari. In alcuni di essi si vede **il nucleo, in altri** si sorprendono fasi di scissione.
Koristka $^1/_{15}$ **Imm. omog.** — Ocul. comp. 8. — **Lung. tubo 160 m.**

Fig. 5ª. — ***Citoryctes vaccinae.***
a) **Esso è contenuto nel** protoplasma di una cellula epiteliale **rigonfia ed escavata.**
b) **Altre forme provviste** di vacuoli.
(**Koristka** $^1/_{15}$ **Imm. omog.** - Ocul. comp. 12. - **Lung.** tubo 160 m.).

Fig. 6ª. — Cellule epiteliari con *Citoryctes vaccinae* **in fase di sporulazione (?).**
(**Koristka** $^1/_{15}$ **Imm. omog.** - Ocul. comp. 12. - **Lung. tubo 160 m.**).

Fig. 7ª. — Serie di fasi di scissione del *Citoryctes vaccinae* **tolte da un medesimo preparato.**
(**Koristka** $^1/_{15}$ **Imm. omog.** - Ocul. comp. 12. - **Lung.** tubo 160 m.).

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVI. N. 23.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Padova.
(Prof. A. STEFANI).

AZIONE DELL'UREA

SUI CENTRI VASOMOTORI DEI RENI

NOTA

DEI DOTTORI

A. CAVAZZANI e G. REBUSTELLO

Da quanto fu pubblicato a varie riprese in quest'*Archivio*, risulta che l'urea spiega sull'apparecchio della circolazione una doppia azione: una azione diretta dilatatrice sulle pareti vasali, ed una azione indiretta costrittrice per mezzo dei centri vasomotori. La prima è stata dimostrata pei vasi renali, epatici, cerebrali, polmonari, e cutaneo-muscolari: la seconda fu dimostrata solo per i vasi cutaneo-muscolari degli arti posteriori. Per i vasi viscerali non si sapeva altro, che quanto potevasi dedurre dagli esperimenti di Roy e Cohnheim, relativi ai reni, secondo i quali, questi visceri, in seguito all'iniezione di urea nel circolo, presentano primitivamente una diminuzione, e secondariamente un aumento di volume. La diminuzione deponeva per una costrizione vasale, l'aumento per una dilatazione: la costrizione non poteva attribuirsi che ad un'eccitazione dei centri vasocostrittori; ma la dilatazione poteva tanto rappresentare un fenomeno attivo vasomotorio, quanto costituire un fenomeno semplicemente

meccanico, subordinato all'aumento della pressione generale. Le nostre ricerche ebbero lo scopo di risolvere questo problema.

A tal fine si praticava la circolazione artificiale attraverso ad un rene, lasciando integra, per quanto fosse possibile, la sua innervazione, e, dopo aver determinata la velocità di efflusso del liquido fatto circolare, si iniettava dell'urea nel circolo generale dell'animale. Si osservò in tal modo verificarsi una notevole costrizione dei vasi renali, la quale è necessariamente da ascriversi alla stimolazione dei centri vasomotori per parte dell'urea. L'intensità di tale costrizione è minore dell'intensità della costrizione verificata nei vasi cutaneo-muscolari, poichè è rappresentata dalle cifre 1,16 ed 1,30, mentre la seconda è rappresentata dalle cifre 1,57 e 2,27 (*Arch. per le Scienze med.*, vol. XV, n. 21, pag. 335). La durata, invece, di tale costrizione sembrerebbe maggiore di quella dei vasi cutaneo-muscolari, poichè, avendo prolungato notevolmente la circolazione artificiale attraverso ai reni, dopo l'iniezione d'urea, non ci venne dato di osservare, per tutta la durata delle esperienze, alcun acceleramento dell'efflusso. Però in realtà devesi dire che i vasi cutaneo-muscolari presentano, in seguito all'iniezione d'urea, una costrizione energica di breve durata, e poi rimangono per lungo tempo in uno stato di contrazione moderata, fino al momento in cui comincia a stabilirsi il restringimento progressivo, solito a verificarsi in tutti gli esperimenti di circolazione artificiale: e che i vasi renali nelle stesse condizioni presentano solo un restringimento moderato, che egualmente persiste fino alla comparsa del restringimento progressivo. Portiamo qui due esperimenti assai dimostrativi, i quali, confrontati cogli esperimenti sopracitati relativi ai vasi cutaneo-muscolari, ci sembrano appoggiare perfettamente le nostre conclusioni. In uno di questi, per assicurarci che fosse integra l'innervazione del rene sottoposto alla circolazione artificiale, abbiamo ad un dato punto sospesa la respirazione, ed abbiamo infatti osservato diminuire notevolmente la velocità di efflusso, per la contrazione dei vasi.

Esperimento I.

Circolaz. artif. attraverso un rene, in un cane di Kgr. 3,200, *curarizzato e sottoposto alla respirazione artificiale.*

1. Velocità di efflusso in cmc. per ogni minuto al principio dell'esperimento: 51—50—47,5—41,5—45,5—45,5—45,5.
2. Id. id. dopo l'iniezione di 1 gr. d'urea nella giugulare: 42—40—39,5—39—39—39—39.

$$\text{Costrizione} = \frac{45,5}{39} = \mathbf{1,16}.$$

Esperimento II.

Circolaz. artif. attraverso un rene, in un cane di Kgr. 14, *curarizzato e sottoposto alla respirazione artificiale.*

1. Velocità di efflusso in cmc. per ogni minuto al principio dell'esperimento: 37,5—38,5—38,5—39—39—39.
2. Id. id. dopo l'iniezione di 2 gr. d'urea nella vena femorale: 36,5—35—34—30—30—30 . . . . .

$$\text{Costrizione} = \frac{39}{30} = \mathbf{1,30}.$$

3. Id. id. dopo 30′ d'esperimento: 26—26—25—25.
4. Id. id. dopo la sospensione del respiro: 22—18—17—16—16—16.

Possiamo dunque concludere che l'urea iniettata in circolo stimola i centri vaso-costrittori anche dei reni, e che l'aumento di volume osservato nei reni dal Roy e dal Cohnheim non è un semplice fenomeno di dilatazione vasale attiva, ma un fenomeno complesso, prodottto da due meccanismi, vale a dire dall'aumento di pressione, che si verifica per la costrizione dei vasi cutaneo-muscolari (e forse anche di altre province vascolari), e dall'azione locale dilatatrice dell'urea sulle pareti dei vasi renali. A quale dei due momenti spetti la parte principale nel determinare la dilatazione dei vasi renali, non è possibile dirlo; ma, considerando che l'azione locale dilatatrice dell'urea sui vasi renali è molto più considerevole, che non sui vasi delle altre parti dell'organismo, e che l'azione

costrittrice si fa sentire molto più energicamente sui centri vasomotori della cute e dei muscoli, che non su quelli dei reni, è probabile che ambedue i fattori intervengano contemporaneamente, allo scopo di favorire la eliminazione rapida dell'urea.

Resta così illustrato il mirabile meccanismo, col quale l'organismo effettua la regolazione della circolazione nei reni, in riguardo all'urea, per modo che da una sola azione costrittrice dell'urea su tutti i centri vasomotori, e da una sola azione dilatatrice dell'urea su tutti i vasi, esso ottiene nei reni un fatto vasomotorio diverso da quello degli altri organi, e ciò mediante semplici variazioni d'intensità delle due azioni comuni fondamentali. E se qualche cosa di simile devesi ammettere anche per l'asfissia, come risulta da altre nostre osservazioni, già pubblicate, tale meccanismo appare come un fatto non isolato nell'economia animale.

Con ciò crediamo di avere, se non esaurito, certamente studiata nei suoi particolari più importanti l'azione dell'urea sull'apparecchio della circolazione. Riassumendo brevemente gli studi precedenti, essa può così formularsi: 1) L'urea ha un'azione diretta stimolante su tutti i centri vasocostrittori, e sui gangli cardiaci, e per questa azione essa determina l'aumento della pressione sanguigna; 2) L'urea ha un'azione diretta dilatatrice sulle pareti di tutti i vasi sanguigni; l'intensità di tale azione è massima pei vasi renali; 3) L'urea non ha azione alcuna sulle estremità nervose sensitive, e non determina in via riflessa alcun fatto vasomotorio.

Quanto all'importanza di questi fatti per la spiegazione dell'ipertrofia di cuore nel morbo di Bright, sarebbe superfluo insistervi; solamente, all'influenza già ammessa dell'aumento di pressione, prodotto dalla costrizione di tutte le distribuzioni vasali, devesi aggiungere l'influenza dell'azione diretta dell'urea sui gangli cardiaci.

Padova, nel Luglio del 1892.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 24.

Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Padova
(Prof. A. STEFANI).

DELL'AZIONE DELL'ASFISSIA
SUI VASI CUTANEO-MUSCOLARI

CONTRIBUTO SPERIMENTALE

DEL

Dott. **Giuseppe REBUSTELLO**

Ludwig e Thiry ammisero che nell'asfissia tutte le arterie, del tronco e delle estremità, si restringono. Un tale concetto rimase come fatto accertato in scienza, finchè Heidenhain e Grützner (1) opposero ai precedenti, che la costrizione vasale, che si effettua nell'asfissia, si limita ai soli vasi innervati dallo splancnico, giacchè i vasi cutaneo-muscolari presentano invece una dilatazione. Poco appresso vennero i lavori dello Zuntz (2), che dimostrando come nella sospensione del respiro si dilatino i vasi dell'orecchio, convalidavano le asserzioni di Heidenhain e Grützner. Alcuni anni dopo, Dastre e Morat (3) studiando lo stesso argo-

(1) Heidenhain u. Grützner, « Beiträge zur Kenntniss der Gefässinnervation » (*Pflüger's Arch.*, 1878, vol. XVI, pag 1).

(2) Zuntz, « Beiträge zur Kenntniss der Einwirkung der Athmung auf dem Kreislauf » (*Pflüger's Arch.*, 1878, vol. XVII, pag. 374).

(3) Dastre e Morat, « Influence du sang asphyxique sur l'appareil nerveux de la circulation » (*Arch. d. physiol. norm. et path.*, 1884, p. 1).

mento, conclusero che nell'asfissia si ha dilatazione dei vasi cutanei non solo, ma anche dei vasi della mucosa boccale.

Avendo, per consiglio del Prof. Stefani, fatti alcuni esperimenti sull'azione dell'asfissia sui centri dei vasi cutaneo-muscolari, riporto brevemente i risultati ottenuti, esponendo due degli esperimenti più dimostrativi.

I miei esperimenti avevano per iscopo di escludere l'intervento di altri fattori, che non fossero le influenze vasomotrici centrali: consistevano cioè nel praticare la circolazione artificiale attraverso territorî vasali muscolo-cutanei, segregati dalla circolazione generale, ma sottoposti ancora alla loro normale innervazione.

Operai su cani e gatti curarizzati e mantenuti in vita colla respirazione artificiale. Aperto l'addome, e legata l'aorta subito sotto l'origine delle arterie renali, e, ad uguale altezza, la cava, innestavo nel tronco periferico d'ognuna una cannula. Coll'apparecchio (1) altra volta descritto, praticavo la circolazione artificiale con una soluzione fisiologica di cloruro di sodio al 7,5 ‰, mantenuta a temperatura costante di 38° C. ed alla pressione di 150 mm. di Hg. Il liquido che usciva dalla vena lo raccoglievo continuamente durante l'esperimento in un vaso graduato, e calcolavo il tempo necessario per l'efflusso di una quantità costante di liquido, sia durante il respiro, sia durante la sospensione del respiro, col qual mezzo ottenevo l'asfissia. Il tempo era misurato con un cronometro a minuti secondi indipendenti. Negli esperimenti, che ora riporto, con un semplice calcolo proporzionale ho ridotto ad unità di tempo le cifre ottenute. Coll'espressione *coefficiente di costrizione*, intendo il rapporto fra la quantità di liquido che fluiva dalla vena prima della sospensione del respiro, e la minima quantità fluita durante la sospensione.

---

(1) A. Cavazzani e G. Rebustello, *Archivio per le Scienze mediche,* vol. XV, n. 5.

Esperimento I.

Circolazione artificiale attraverso le iliache primitive.

Pressione 150 mm. Hg.

Cm³ fluiti dalle vene in un minuto primo	
durante il respiro	durante la sospensione del respiro
111—120—125—125-125 il liquido è commisto a sangue	
	120—125—111—115 il liquido è quasi incoloro
136—136—150—166 ritorna commisto a sangue	
	150—157—157—157—157 il sangue è quasi scomparso

Coefficiente di costrizione $1^{\circ} = \frac{125}{111} = 1{,}126.$

» » $2^{\circ} = \frac{166}{150} = 1{,}106.$

Esperimento II.

Circolazione artificiale attraverso le iliache primitive.

Pressione 150 mm. Hg.

Cm³ fluiti dalla vena in un minuto primo	
durante il respiro	durante la sospensione del respiro
70—75—79 il liquido contiene molto sangue	
	62—65—65 il liquido è quasi incoloro
88—76—76 ricompare il sangue	
	68—63,5 ritorna il liquido incoloro
63,5—65—66,5—70 ritorna abbondante il sangue	

Coefficiente di costrizione $1^{\circ} = \frac{79}{62} = 1{,}274.$

» » $2^{\circ} = \frac{76}{63{,}5} = 1{,}196.$

Dagli esperimenti sopra riportati si rileva chiaramente come l'asfissia irriti i centri vaso-costrittori dei vasi muscolo-cutanei.

Nei miei esperimenti, il liquido che fluiva era commisto a sangue, ma durante la sospensione del respiro era più scolorito e si faceva quasi incoloro, se si prolungava la sospensione, la diminuzione del deflusso diventava più notevole. Questo fatto viene a convalidare il risultato dello esperimento, perchè dimostra che durante la dispnea diminuisce o cessa il passaggio del sangue dal circolo generale nei vasi sottoposti a circolazione artificiale per la via dei rami collaterali. Ora non potendo questo passaggio effettuarsi, nelle condizioni di questi esperimenti, se non per i rami arteriosi cutaneo-muscolari delle pareti addominali, resta, come dissi, appoggiato validamente il mio asserto che per azione della dispnea i vasi cutaneo-muscolari si restringono. Concludo adunque che *l'asfissia eccita i centri costrittori dei vasi muscolo-cutanei, come d'ogni altro territorio vascolare.*

Ed ora come spiegare la dilatazione di detti vasi verificata dalla maggior parte degli sperimentatori?

In quest'anno, studiando il Dott. Cavazzani (1) l'azione dell'asfissia sui vasi del circolo cerebrale, venne alla conclusione, contrariamente all'opinione dei più, che essi si restringano come tutti gli altri vasi viscerali. Egli ammette però con Falkenhein e Naunyn che una tale costrizione non sia che iniziale e transitoria. La dilatazione successiva egli la spiega come un fatto passivo dovuto all'aumento generale della pressione, e determinantesi in quell'organo per ragione anzitutto anatomica, dato il minor spessore delle pareti dei vasi cerebrali, e secondariamente per ragione teleologica essendo il cervello l'organo che più abbisogna di ossigeno. Oltre di ciò egli ammette anche un'azione locale dilatatrice del sangue asfittico sui vasi cerebrali. Una consimile interpretazione ammet-

(1) A. Cavazzani, « Dell'azione dell'asfissia sui vasi cerebrali » (*Arch. per le Scienze Med.*, vol. XVI, n. 12).

terò io pure per i vasi muscolo-cutanei. Essi in principio, in via transitoria, soggiacciono alla legge comune della costrizione ed in appresso si dilatano passivamente. Il sangue che viene cacciato dai visceri si deve pur raccogliere in qualche altra parte; la dilatazione dei vasi cerebrali non è al certo sufficiente a compensare la costrizione dei vasi viscerali; è quindi permesso ammettere che i vasi cutanei sopperiscono a questo bisogno, e nello stesso tempo adempiano così anche ad uno scopo teleologico, rendendo la cute in questo caso, per quanto è possibile, organo vicario alla funzione polmonale.

Agli osservatori precedenti che basavano le loro esperienze sull'osservazione del polpastrello delle dita del cane, del padiglione dell'orecchio del coniglio, sulla celerità del deflusso del sangue dalla vena femorale d'un animale, ecc., forse è sfuggito, perchè assai fugace, il fatto della costrizione vasale in tali parti, al principio dell'asfissia.

Dimostrato dunque che l'azione dell'asfissia è uguale su tutti i centri vasomotori, ci resta da spiegare per quale meccanismo avvenga la dilatazione dei vasi cutaneo-muscolari osservata da Heidenhain e Grützner e poi dallo Zuntz e da Dastre e Morat. A ciò si possono invocare tre ipotesi:

1) Un'azione locale dilatatrice del sangue asfittico sui vasi cutaneo-muscolari;

2) Un'azione reflessa vaso-dilatatrice, per irritazione delle terminazioni nervose sensitive cutaneo-muscolari, da parte del sangue asfittico;

3) Un'azione puramente meccanica, subordinata ad uno sfiancamento dei vasi cutaneo-muscolari, dipendente dall'aumento di pressione che segue alla costrizione dei vasi viscerali.

La prima e la terza ipotesi furono ammesse dal Cavazzani (1) per spiegare la dilatazione passiva dei vasi cerebrali, e la seconda fu ammessa dallo Stefani (2) nel suo lavoro dell'influenza del sistema nervoso sulla circolazione collaterale.

---

(1) Luogo citato.

(2) *Lo Sperimentale*, Agosto 1887.

Prima di chiudere, rendo pubbliche grazie al Prof. Stefani per la cordiale ospitalità concessami nel suo laboratorio, per i suoi consigli ed aiuti, e volgo un ringraziamento al Dott. Cavazzani A., che mi fu sempre amico cortese e sincero, aiuto e consigliere.

Padova, Luglio 1892.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XVI. N. 25.

RICERCHE SPERIMENTALI

SULLA

ISTOLOGIA PATOLOGICA DEL NUCLEO

NEGLI AVVELENAMENTI

DEL

Dott. **Salvatore AJELLO**

SUNTO DELL'AUTORE

Scopo del lavoro eseguito nel Laboratorio Anatomo-Patologico del Prof. Petrone nell'Università di Catania, è lo studio della istologia patologica del nucleo, il quale ha grandissima importanza nella vita normale e nella vita patologica della cellula, perchè partecipa all'attività nutritiva, formativa e funzionale di essa.

Dall'esame della letteratura l'A. rileva che l'argomento è stato poco studiato, giacchè quasi tutti gli osservatori, che si sono occupati della istologia patologica del nucleo, si sono limitati a trattare della decolorazione e della scomparsa di esso.

Studia l'argomento sperimentalmente, giacchè le alterazioni nucleari si devono studiare trascorsi pochi minuti dalla morte, quantunque alcune di esse sieno ancora visibili anche 24 ore dopo (Bizzozero-Penzo). Fra i processi morbosi che si possono produrre sperimentalmente l'A. sceglie gli avvelenamenti; tra i veleni quelli del gruppo dell'azoto (*Ph-As-Sb-Bi*) sia perchè essi, sdoppiando l'albumina, producono gravi alterazioni del protoplasma, alle quali il nucleo non può rimanere indifferente, come anche perchè è conosciuto il loro meccanismo d'azione, e si possono così stabilire le relazioni

di causa ed effetto tra gli avvelenamenti e le alterazioni nucleari, non che la patogenesi di quest'ultime. Studia anche l'avvelenamento per *Hg* nel quale, come è noto, non si hanno gravi alterazioni protoplasmatiche, per vedere se in questo caso si riscontrano delle alterazioni nucleari.

Gli organi studiati sono il fegato ed il rene; gli esperimenti furono fatti su conigli, nei quali per ogni farmaco si è prodotto l'avvelenamento acuto, il sub-acuto ed il cronico.

L'A. ha seguito tutti i metodi in uso per gli studi istologici, portando qualche modificazione nei metodi di colorazione specie in quelli alla safranina, ed adoperando la colorazione doppia del nucleo secondo i metodi di Kosinsky, Steinhaus, Ogata. — Ha tentato molte reazioni microchimiche per indagare quale delle sostanze nucleari (pirenina, anfipirenina, linina, paralinina, cromatina) sia modificata nelle varie alterazioni del nucleo e per ricercare la presenza dei veleni nei costituenti la cellula.

In quanto all'esame intimo del nucleo l'A. segue un indirizzo metodico. Distingue alterazioni morfologiche ed alterazioni chimiche.

Le alterazioni morfologiche riguardano la forma del nucleo, l'integrità, il volume, la posizione, il numero, la membrana nucleare, il contenuto (cariomitoma, carioenchilema, nucleoli e granuli di Schrön).

Le alterazioni chimiche riguardano la diversa reazione con le sostanze coloranti, l'intensità della colorazione, la decolorazione, la decomposizione chimica, la scomparsa del nucleo.

Le singole alterazioni morfologiche e chimiche variamente riunite costituiscono dei tipi di nuclei alterati. Studiando gli avvelenamenti di cui sopra è fatto cenno, l'A. ha riscontrato nei nuclei dei parenchimi epatico e renale le seguenti modificazioni patologiche:

1° imbibizione attiva,

2° imbibizione passiva { imbibizione passiva p. d.
degenerazione vacuoliforme
degenerazione idropica
coartazione della cromatina,

3° atrofia ed ipertrofia,

4° degenerazione granulare { a piccoli granuli / a grossi granuli,

5° degenerazione pigmentale,

6° degenerazione cromatinica,

7° degenerazione lininica,

8° degenerazione cristallina,

9° degenerazione a cifra ∞,

10° dissoluzione della cromatina (ialosfere et.), frammentazione, cromatolisi,

11° cariolisi.

Ha potuto inoltre osservare moltissime alterazioni dei nucleoli, dalle quali risale alla funzione contestata del nucleolo e si accorda con l'opinione di Retzius.

Delle precedenti alterazioni la deg. granulare, la deg. pigmentale, la deg. cromatinica, la deg. linica, la deg. cristallina non sono mai state osservate e studiate; della cariolisi e della degenerazione a cifra ∞ si sono occupati alcuni autori, ma non ne descrissero i varii stadi e le diverse modalità.

Si ha la « deg. granulare » del nucleo, quando appaiono in questo delle granulazioni di colorito bruno intenso o nero, originanti da speciale modificazione della cromatina.

La « deg. pigmentale » si stabilisce quando appaiono nel nucleo granuli giallastri di pigmento, oppure i nuclei sono completamente infiltrati di pigmento giallo.

La « deg. cromatinica » si ha quando il nucleo è intensamente colorato e scompaiono la rete, i punti nodali, i nucleoli.

La « deg. lininica » quando i nuclei sono di aspetto ialino e lasciano vedere una rete distinta acromatica, formata da linina.

La « deg. cristallina » si ha quando la nucleina si scompone in sostanze di riduzione che appaiono come cristalli romboidali intranucleari (adenina, ipoxantina, guanina, ecc.).

Di tutte le alterazioni nucleari suddette, l'A. si occupa molto a lungo, spiegandone la patogenesi, la morfologia, le modalità i reciproci rapporti.

In quanto alle relazioni tra le singole modificazioni nucleari

ed i varii avvelenamenti l'A. ha trovato che le alterazioni del nucleo sono identiche per le intossicazioni dei farmaci del gruppo dell'azoto e differiscono solo per intensità ed estensione, cosicchè gli stadii più avanzati od una maggiore estensione di uno stesso processo regressivo si hanno negli avvelenamenti per fosforo ed arsenico, mentre gli stadii meno progrediti e le alterazioni meno estese si osservano negli avvelenamenti per antimonio e bismuto.

Gravissime alterazioni nucleari si riscontrano poi nell'avvelenamento per mercurio, quantunque questo farmaco non produca nel protoplasma quelle gravi modificazioni che son proprie dei veleni del gruppo dell'azoto.

NUOVE PUBBLICAZIONI

Die Mikroorganismen der Mundhöhle, ecc. (*I microrganismi della cavità boccale e le malattie locali e generali da essi prodotte*), del Dott. W. D. Miller, professore all'Università di Berlino, 2ª ediz. Leipzig, Georg Thieme, 1892. Un vol. di 440 pag. con 134 figure nel testo e 18 fotogrammi.

La prima edizione di questo libro venne esaurita in tre anni; e ciò si spiega considerando sia l'importanza degli argomenti che tratta, sia la valentia del suo autore, ben noto tanto per la sua abilità nella pratica, quanto pe' suoi studi batteriologici rivolti specialmente allo studio dei microrganismi della bocca. — Il libro è diviso in due sezioni: la prima sezione incomincia con un capitolo di generalità sui batterî; in tre capitoli successivi tratta dei batterî della bocca, e delle traformazioni che producono nei liquidi boccali; poi negli ultimi quattro capitoli, dopo aver esposto le teorie che si succedettero nello spiegare la carie dei denti, applica le nuove cognizioni fornite dalla batteriologia ad ispiegare la carie stessa, e a proporre le misure razionali più atte a prevenirla e combatterla. — Nella seconda sezione un primo capitolo è dedicato alla descrizione dei numerosi batterî patogeni trovati nella bocca, ed un secondo si occupa delle loro vie di diffusione, e dei processi patologi che ne derivano. Chiude l'opera un capitolo sopra i blastomiceti e gli ifomiceti trovati nella bocca. — Come si vede, è un libro di cui è a raccomandarsi la lettura anche ai medici non dentisti, giacchè questi vi troveranno molte nozioni che escono dal dominio della specialità, e che troveranno utili anche nella loro pratica. B.

Chirurgia sperimentale e fatti clinici *per* I. Lampiasi. (Palermo, Brangi, 1891). Un vol. di 146 pag. con 20 tavole litografiche.

L'A. si è proposto di studiare alcuni problemi chirurgici, indagando la genesi dei fatti clinici con adatti esperimenti sugli animali. — Nella prima parte del libro dà conto dei risultati delle sue ricerche su due questioni relative alle legature delle arterie; determina, cioè, se si possa applicare il laccio sul sito di biforcazione di una branca arteriosa, e di-

scute quale sia la causa del rammollimento cerebrale in seguito alla legatura della carotide primitiva. — Nella 2ª parte espone i suoi esperimenti sulla sutura delle arterie, dai quali viene indotto a concludere favorevolmente ad essa, quantunque confessi che i casi in cui possa usarsi con frutto non possano essere frequenti. — Infine nella 3ª parte dà conto di ricerche fatte sull'organizzazione del trombo bianco, dalle quali ha concluso che l'organizzazione dipende da una proliferazione dell'intima, e più specialmente dell'endotelio, per mezzo della quale il trombo viene circuito da strati concentrici più compatti al centro che alla periferia, e da una infiltrazione parvicellulare di quantità variabile sparsa in punti centrali del trombo. In quanto poi all'accrescimento del trombo bianco, Egli condivide l'opinione di Bizzozero in quanto riguarda il primo periodo della sua formazione, mentre nelle fasi successive Egli ritiene che l'ingrossamento dipenda dall'incapsulamento del trombo primitivo per mezzo degli elementi proliferanti della parete arteriosa e dell'endotelio, non che in alcuni casi, dalla penetrazione di correnti di leucociti.

Bacteriologia chirurgica del Dott. N. Senn, Prof. di Patologia chirurgica in Chicago. Traduzione dall'inglese con note del Dott. B. Roncalli. Un vol. di 296 pag. con 8 tavole cromolitografate, edito dalla casa Vallardi.

È questo un trattato che merita di essere consigliato ai medici e agli studiosi in genere, perchè in esso possono trovare una guida buona per lo studio delle malattie chirurgiche prodotte da microrganismi. Il Roncalli così non solo ha arricchito la biblioteca medica italiana di una buona opera traducendo il trattato del Prof. Senn, ma ha contribuito ad aumentarne il valore scientifico colle importanti aggiunte, che dimostrano in lui una conoscenza esatta della nostra letteratura medica. In questo trattato non solo vengono studiati i rapporti fra i microrganismi e le malattie chirurgiche, ma sono pure ampiamente svolti diversi importanti capitoli della patologia, come ad es. la trasmissione ereditaria dei microbi, il loro modo di eliminazione, ecc.

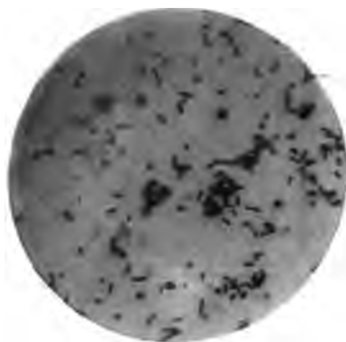


Fig. 1a.

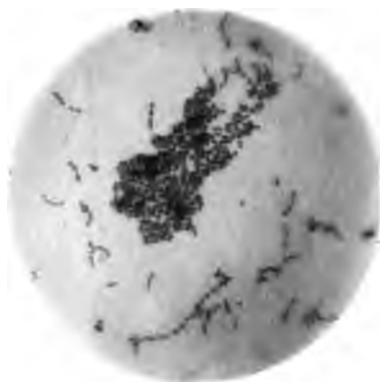


Fig. 2a.

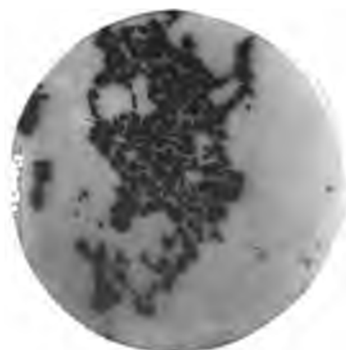


Fig. 3a.

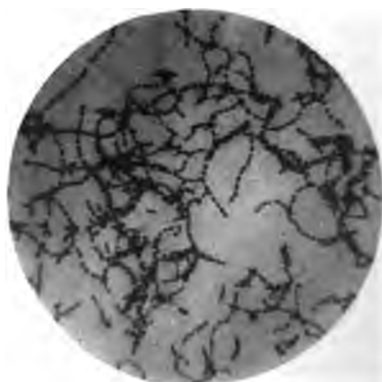


Fig. 4a.



Fig. 5a.



Fig. 6a.

Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3

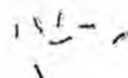


Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6

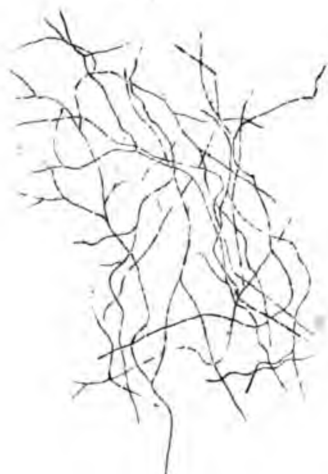


Fig. 7



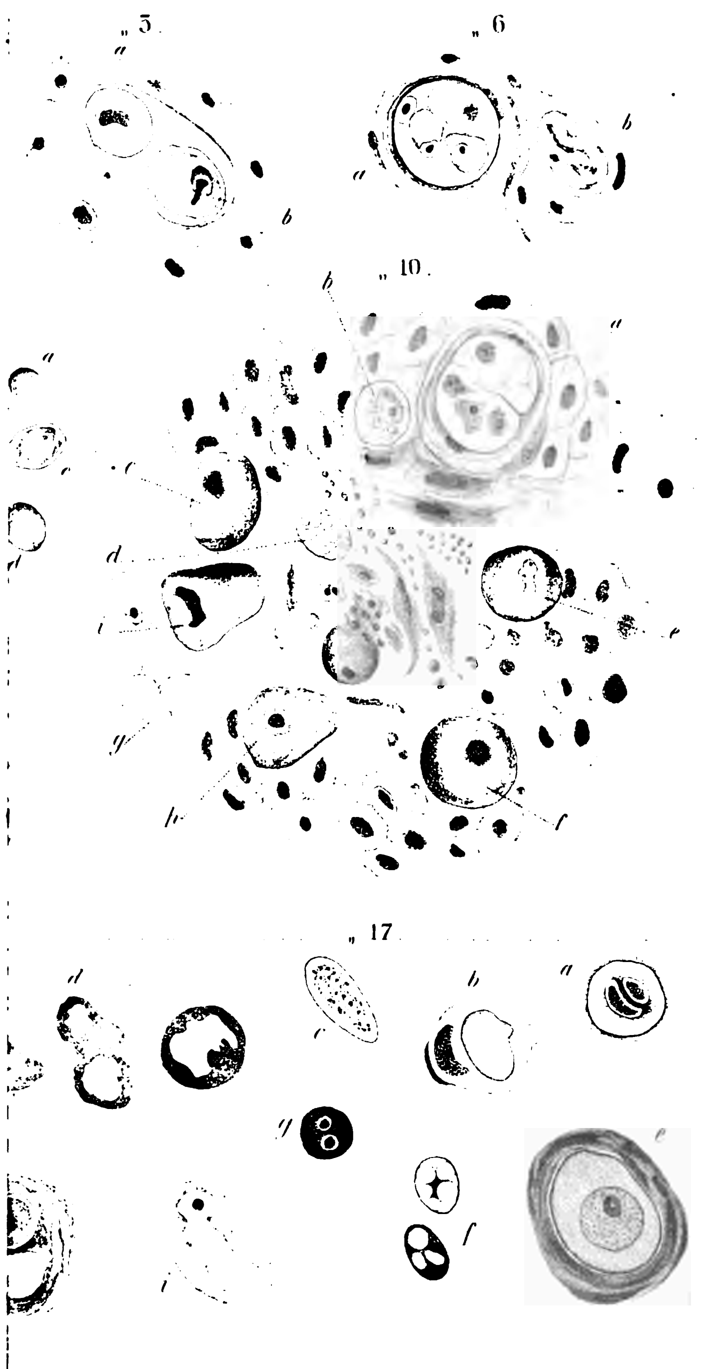
Fig. 8



Fig. 9



O Mattirolo dis. Lit. Salussolia - Torino


„ 5.
a
b
„ 6.
a
b
„ 10.
a
b
c
d
e
f
g
h
i
„ 17.
a
b
c
d
e
f
g
i







